

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
13 mars 2003 (13.03.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 03/020972 A1

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C12Q 1/68,  
C07K 14/31, C12N 15/31

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : RAOULT,  
Didier [FR/FR]; 80, rue de Lorraine, F-13008 Marseille  
(FR). DRANCOURT, Michel [FR/FR]; 9, Traverse de la  
Pauline, F-13012 Marseille (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR02/03012

(22) Date de dépôt international :

5 septembre 2002 (05.09.2002)

(74) Mandataire : DOMANGE, Maxime; Cabinet Beau de  
Loménie, 232, avenue du Prado, F-13295 Marseille Cedex  
08 (FR).

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

01/11514 6 septembre 2001 (06.09.2001) FR

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,  
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,

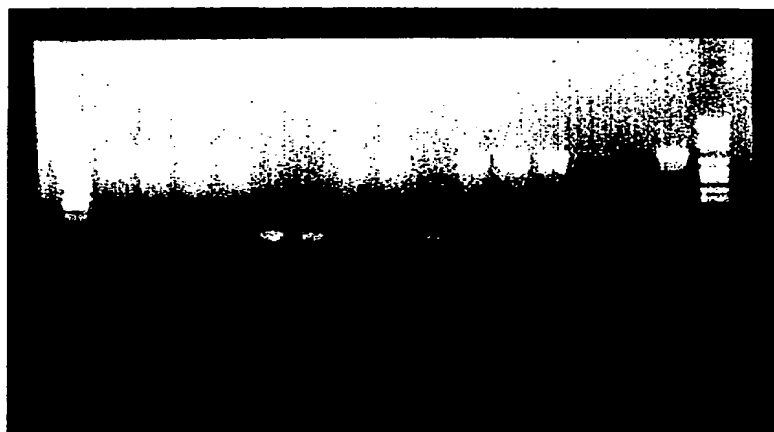
(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :  
BIOMERIEUX [FR/FR]; F-69280 Marcy l'Etoile (FR).

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: MOLECULAR IDENTIFICATION OF STAPHYLOCOCCUS-TYPE BACTERIA

(54) Titre : IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BACTERIES DU GENRE *STAPHYLOCOCCUS*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17



(57) Abstract: The invention relates to a method of detecting, by means of molecular identification, a bacterium from one of the *Staphylococcus*-type species. The inventive method is characterised in that the following are used: a fragment of the *rpoB* gene of said bacterium, comprising a nucleotide sequence selected from one of the SEQ.ID. n° 11 to 39 sequences, the reverse sequences and the complementary sequences; or an oligonucleotide comprising a sequence having at least 12 consecutive nucleotide patterns included in one of the SEQ.ID. n° 7 to 10 sequences, in which N represents a nucleotide selected from inosine and an equimolar mixture of 4 different nucleotides selected from A, T, C or G and from the oligonucleotides of the reverse sequences and complementary sequences.

[Suite sur la page suivante]

BEST AVAILABLE COPY



WO 03/020972 A1



SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US seulement

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publiée :**

— avec rapport de recherche internationale  
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

**Déclarations en vertu de la règle 4.17 :**

— relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17.iii)) pour toutes les désignations

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) Abrégé : Procédé de détection par identification moléculaire d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Staphylococcus* caractérisé en ce qu'on utilise : un fragment dudit gène *rpoB* de ladite bactérie, comprenant une séquence nucléotidique choisie parmi l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, les séquences inverses et les séquences complémentaires, ou un oligonucléotide comprenant une séquence d'au moins 12 motifs nucléotidiques consécutifs incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, dans lesquelles N représente un nucléotide choisi parmi l'inosine et un mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C ou G, et parmi les oligonucléotides des séquences inverses et séquences complémentaires.

### Identification moléculaire des bactéries du genre *Staphylococcus*

La présente invention concerne le domaine du diagnostic. Plus précisément, l'invention concerne une méthode pour l'identification moléculaire des bactéries du genre *Staphylococcus* par les techniques de détection et/ou d'amplification et séquençage à l'aide de sondes ou d'amorces oligonucléotidiques appliquées à des souches de ce genre bactérien.

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des bactéries cocciformes, Gram-positive et catalase-positive dont on reconnaît actuellement 36 espèces dont 9 comprennent des sous-espèces [Euzéby JP. (1997) Int J Syst Bacteriol 47 :590-2]. Ces espèces sont coagulase-négative, à l'exception de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus delphinii*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*, et quelques souches de *Staphylococcus hyicus* [Kloos WE (1995) In Manual of Clinical Microbiology, pp 282-298, ASM Press]. Ces espèces sont facilement et fréquemment isolées et cultivées à partir de prélèvements environnementaux, de prélèvements cliniques vétérinaires et de prélèvements cliniques humains [Kloos WE (1986) in Bergey's manual of Systematic Bacteriology, pp. 1013-1035, Williams & Wilkins]. Chez l'homme, *Staphylococcus aureus* est une espèce coagulase-positive responsable d'intoxication alimentaire liée à la production d'une entérotoxine, du choc toxique staphylococcique, et d'infections purulentes caractérisées par des métastases septiques à distance du foyer infectieux initial. Les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline, qui est l'antibiotique de première ligne pour combattre ces infections, représentent un problème important de santé publique dans le cadre des infections nosocomiales, c'est à dire des infections contractées par les patients dans le cours de leur hospitalisation dans un établissement de soins. Les bactéries des espèces du genre *Staphylococcus* coagulase-négative font partie de la flore normale chez l'homme. Ces espèces sont également responsables d'infections nosocomiales, en particulier d'infection des matériels étrangers implantés en particulier des prothèses implantées [Kloos WE (1994) Clin. Microbiol. Rev. 7 :117-140].

Ces différentes espèces posent le problème de leur identification. Les méthodes conventionnelles d'identification phénotypique sont les plus couramment utilisées pour l'identification des bactéries des espèces du genre

*Staphylococcus* [Kloos WE (1991) J. Clin. Microbiol. 29 :738-744] et plusieurs trousse d'identification ainsi que des automates ont été développés pour aider à l'identification phénotypique des bactéries du genre *Staphylococcus*. Cependant, le degré d'identification en pratique courante est variable [Grant CE (1994) 5 Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 18 :1-5 ; Perl TM (1994) Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 18,151-5 ; Refshal K (1992) J. Hosp. Infect. 22,19-31] : par exemple, les bactéries appartenant aux espèces *Staphylococcus hominis* et *Staphylococcus warneri* sont confondues par la plupart de ces systèmes, avec des taux d'erreurs de 27 à 36% [Gran CE (1994) Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 18 :1-5 ; leven M 10 (1995) J. Clin. Microbiol. 33 :1060-3]. De même, *Staphylococcus schleiferi* peut être mal identifié par les systèmes d'identification automatique [Calvo J (2000) J. Clin. Microbiol. 38 :3887-9]. Les méthodes moléculaires peuvent donner en théorie de meilleurs résultats pour l'identification des bactéries du genre *Staphylococcus* du fait de leurs qualités de sensibilité et de spécificité. Les cibles 15 moléculaires actuellement proposées pour l'identification moléculaire des bactéries du genre *Staphylococcus* comprennent le gène 16S rADN codant la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal [Bialkowska-Hobrzanska H et al. (1990) Eur. J. Microbiol. Infect. Dis. 9:588-594], l'entretoise des gènes codant les ARN de transfert [Maes N. et al. (1997) J. Clin. Microbiol. 35 :2477-2481], le gène *hsp60* 20 codant pour la protéine de stress 60 [Goh SH et al. (1996) J. Clin. Microbiol. 34 :818-823 ; Goh SH (1997) J. Clin. Microbiol. 35,3116-3121 ; Kwok AY (1999) Int J Syst Bacteriol 49,1181-1192] et le gène *femA* [Vannuffel P et al. Res. Microbiol. 150 :129-141]. L'hybridation d'oligonucléotides est la technique généralement proposée pour cibler ces régions d'identification. La détection du 25 gène *nuc* est limitée aux bactéries de l'espèce *Staphylococcus aureus* [Brakstad OG (1992) J. Clin. Microbiol. 30 :1654-1660] et un fragment chromosomique a été rapporté pour l'identification des bactéries de l'espèce *Staphylococcus epidermidis* [Martineau F (1996) J. Clin. Microbiol. 34 :2888-2893]. Il existe donc toujours une demande d'un outil d'identification moléculaire des bactéries des 30 espèces du genre *Staphylococcus* utilisable en routine au laboratoire de bactériologie [Kleeman KT (1993) J. Clin. Microbiol. 31,1318-1321].

Les inventeurs ont démontré selon la présente invention, que le gène *rpoB* constitue un marqueur génétique permettant la détection et l'identification spécifique de la bactérie de chaque espèce du genre *Staphylococcus*.

Plus particulièrement, la présente invention concerne des séquences  
5 d'acides nucléiques spécifiques du genre ou de chaque espèce du genre *Staphylococcus* dont la séquence nucléotidique est tirée du gène *rpoB* des dites bactéries.

Selon Lazcano et al. [J. Mol. Evol. (1988) 27 :365-376], les ARN polymérases sont divisées en deux groupes selon leur origine, l'un constitué par  
10 les ARN polymérases virales ARN- ou ADN-dépendantes, et l'autre constitué par les ARN polymérases ADN-dépendantes d'origine eucaryote ou procaryotes (archaébactéries et eubactéries). Les ARN polymérases ADN-dépendantes eubactériennes sont caractérisées par une constitution multimérique simple et conservée notée « core enzyme », représentée par  $\alpha\beta\beta'$ , ou « holoenzyme »  
15 représentée par  $\alpha\beta\beta'\sigma$  [Yura and Ishihama, Ann. Rev. Genet. (1979) 13 :59-97]. De nombreux travaux ont mis en évidence le rôle fonctionnel, au sein du complexe enzymatique multimérique, de la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase eubactérienne. Les ARN polymérases archaébactérienne et eucaryote présentent, pour leur part, une structure plus complexe pouvant atteindre une  
20 dizaine, voire une trentaine de sous-unités [Pühlet et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86 :4569-4573].

Les gènes qui codent les différentes sous-unités  $\alpha\beta\beta'\sigma$  de l'ARN polymérase ADN-dépendante chez les eubactéries, respectivement les gènes *rpoA*, *rpoB*, *rpoC* et *rpoD*, sont classés en différents groupes comprenant les  
25 gènes codant pour des protéines constitutives des sous-unités ribosomiques ou pour des enzymes impliqués dans la réplication et la réparation du génome [Yura and Ishihama, Ann. Rev. Genet. (1979) 13 :59-97]. Certains auteurs ont montré que les séquences des gènes *rpoB* et *rpoC* pouvaient être utilisées afin de construire des arbres phylogénétiques [Rowland et al. Biochem. Soc. Trans.  
30 (1992) 21 :40S] permettant de séparer les différents embranchements et sous-embranchements parmi les règnes du vivant.

Avant d'exposer plus en détail l'invention, différents termes, utilisés dans la description et les revendications, sont définis ci-après:

- par « acide nucléique extrait de bactéries » on entend soit l'acide nucléique total, soit l'ADN génomique, soit les ARN messagers, soit encore l'ADN obtenu à partir de la transcription inverse des ARN messagers ;
- un « fragment nucléotidique » ou un « oligonucléotide » sont deux termes  
5 synonymes désignant un enchainement de motifs nucléotidiques caractérisé par une séquence informationnelle des acides nucléiques naturels (ou éventuellement modifiés) et susceptibles de s'hybrider, comme les acides nucléiques naturels, avec un fragment nucléotidique complémentaire ou sensiblement complémentaire, dans des conditions prédéterminées de  
10 stringence stricte. L'enchainement peut contenir des motifs nucléotidiques de structure différente de celle des acides nucléiques naturels. Un fragment nucléotidique (ou oligonucléotide) peut contenir par exemple jusqu'à 100 motifs nucléotidiques. Il contient généralement au moins 10, et en particulier au moins 12 motifs nucléotidiques et peut être obtenu à partir d'une molécule d'acide  
15 nucléique naturelle et/ou par recombinaison génétique et/ou par synthèse chimique,
- un motif nucléotidique est dérivé d'un monomère qui peut être un nucléotide naturel d'acide nucléique dont les éléments constitutifs sont un sucre, un groupement phosphate et une base azotée choisie parmi l'adénine  
20 (A), la guanine (G), l'uracile (U), la cytosine (C), la thymine (T) ; ou bien le monomère est un nucléotide modifié dans l'un au moins des trois éléments constitutifs précédents ; à titre d'exemple, la modification peut intervenir soit au niveau des bases, avec des bases modifiées telles que l'inosine, qui peut s'hybrider avec toute base A, T, U, C ou G, la méthyl-5-désoxycytidine, la  
25 désoxyuridine, la diméthylamino-5-désoxyuridine ou toute autre base modifiée capable d'hybridation, soit au niveau du sucre, par exemple le remplacement d'au moins un désoxyribose par un polyamide [Nielsen PE et al., Science (1991) 254 :1497-1500], soit encore au niveau du groupement phosphate, par exemple par remplacement par des esters choisis notamment parmi les  
30 diphosphates, les alkylphosphonates et les phosphorothioates,
- par « hybridation », on entend le processus au cours duquel, dans des conditions appropriées, deux fragments nucléotidiques ayant des séquences suffisamment complémentaires sont susceptibles de s'associer par des

liaisons hydrogène stables et spécifiques, peut former un double brin. Les conditions d'hybridation sont déterminées par la « stringence », c'est à dire la rigueur des conditions opératoires. L'hybridation est d'autant plus spécifique qu'elle est effectuée à plus forte stringence. La stringence est fonction notamment de la composition en bases d'un duplex sonde/cible, ainsi que par le degré de mésappariement entre deux acides nucléiques. La stringence peut également être fonction des paramètres de la réaction d'hybridation, tels que la concentration et le type d'espèces ioniques présentes dans la solution d'hybridation, la nature et la concentration d'agents dénaturants et/ou la température d'hybridation. La stringence des conditions dans lesquelles une réaction d'hybridation doit être réalisée dépend notamment des sondes utilisées. Toutes ces données sont bien connues et les conditions appropriées peuvent éventuellement être déterminées dans chaque cas par des expériences de routine. En général, selon la longueur des sondes utilisées, la température pour la réaction d'hybridation est comprise entre environ 20 et 65°C, en particulier entre 35 et 65°C dans une solution saline à une concentration d'environ 0,8 à 1 M.

- une « sonde » est un fragment nucléotidique possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées pour former un complexe d'hybridation avec un acide nucléique ayant, dans le cas présent, une séquence nucléotidique comprise soit dans un ARN messager, soit dans un ADN obtenu par transcription inverse dudit ARN messager, produit de transcription ; une sonde peut être utilisée à des fins de diagnostic (notamment sondes de capture ou de détection) ou à des fins de thérapie,
- une « sonde de capture » est une sonde immobilisée ou immobilisable sur un support solide par tout moyen approprié, par exemple par covalence, par adsorption, ou par synthèse directe sur un solide. Des exemples de supports comprennent les plaques de microtitration et les puces à ADN,
- une « sonde de détection » est une sonde marquée au moyen d'un agent marqueur choisi par exemple parmi les isotopes radioactifs, les enzymes, en particulier les enzymes susceptibles d'agir sur un substrat chromogène, fluorigène ou luminescent (notamment une peroxydase ou une phosphatase alcaline), les composés chimiques chromophores, les composés chromogènes,

fluorigènes ou luminescents, les analogues des bases nucléotidiques et les ligands tels que la biotine,

- une « sonde d'espèce » est une sonde permettant l'identification spécifique de l'espèce d'une bactérie,
- 5 - une « sonde de genre » est une sonde permettant l'identification spécifique du genre d'une bactérie,
- une « amorce » est une sonde comprenant par exemple 10 à 100 motifs nucléotidiques et possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées pour les réactions d'amplification enzymatique,
- 10 - par « réaction d'amplification » on entend une réaction de polymérisation enzymatique, par exemple dans une technique d'amplification telle que la PCR, initiée par des oligonucléotides amorces et utilisant une ADN polymérase.
- par « réaction de séquençage », on entend l'obtention de la séquence d'un fragment d'acide nucléique ou d'un gène complet par un procédé de polymérisation abortive à partir d'amorces oligonucléotidiques et utilisant  
15 lesdits didésoxynucléotides (Sanger F, Coulson AR (1975), J.Mol.Biol. 94 : 441) ou par hybridations multiples avec des sondes multiples fixées sur support solide telles qu'utilisées dans les puces ADN par exemple.

Les inventeurs ont déterminé les séquences complètes des gènes *rpoB*  
20 de quatre espèces de bactéries du genre *Staphylococcus*. Ces quatre espèces ont été choisies par les inventeurs comme représentant les quatre principaux groupes génétiques déterminés sur la base de l'étude du gène 16S dans les bactéries du genre *Staphylococcus*, à savoir les espèces phylogénétiquement les plus divergentes parmi l'ensemble des espèces actuellement décrites dans  
25 ce genre, de sorte que l'alignement des séquences *rpoB* obtenues chez ces quatre espèces puisse encadrer phylogénétiquement vraisemblablement l'ensemble des séquences *rpoB* de toutes les espèces de ce genre bactérien.

Les inventeurs ont mis en évidence les séquences consensus et spécifiques SEQ.ID. n° 7 à 10 décrites dans le listage des séquences en fin de  
30 description. Les inventeurs ont déterminé lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 à 10 comme étant non seulement consensuelles entre toutes les bactéries du genre *Staphylococcus* mais en outre spécifiques de la famille des bactéries du genre



*Staphylococcus*, excepté *Staphylococcus schleiferi* en ce qui concerne la séquence SEQ.ID. n°8.

Ces séquences sont présentes dans les gènes *rpoB* de toute bactérie du genre *Staphylococcus* et spécifiques des bactéries du genre *Staphylococcus* pouvant être utilisées à titre de sonde de genre pour détecter toute bactérie du genre *Staphylococcus* excepté *Staphylococcus schleiferi* en ce qui concerne la séquence SEQ.ID. N° 8.

Dans les séquences SEQ.ID. n° 7 et 10, le nucléotide N mentionné dans le listage de séquences en fin de description, peut représenter l'inosine ou un mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C et Gt, ou respectivement A, U, C et G, dans la mesure où, comme mentionné dans les définitions, un oligonucléotide ou un fragment d'acide nucléique selon l'invention peut être sous forme d'un acide des oxyribonucléiques (ADN) ou d'un acide ribonucléique (ARN) pour lesquels, dans ce cas, T est remplacé par U.

Lorsque "N" représente un dit mélange équimolaire de nucléotides à une position donnée, cela signifie que le nucléotide à ladite position donnée représente indifféremment A, T, C ou G (ou respectivement le cas échéant A, U, C ou G) et que l'oligonucléotide selon l'invention est constitué plus précisément d'un mélange équimolaire de 4 groupes d'oligonucléotides dans chacun desquels groupes N a une signification différente à ladite position donnée et représente respectivement chacun des 4 bases A, T, C ou G (ou respectivement A, U, C ou G).

A la position correspondant à un nucléotide N dans les séquences SEQ.ID. n° 7 et 10 on trouve des nucléotides variables dans les séquences cibles complémentaires en fonction de l'espèce de la bactérie considérée, mais tous les autres nucléotides sont conservés dans toutes les espèces des bactéries du genre *Staphylococcus*. Du fait que "N" représente l'inosine qui peut s'hybrider avec toute base ou un mélange équimolaire des 4 bases A, T, C, G, les séquences SEQ.ID. n° 7 et 10 peuvent s'hybrider avec la séquence complémentaire incluse dans le gène *rpoB* de toutes les bactéries du genre *Staphylococcus*.

En outre, les séquences consensus SEQ.ID. n° 9 et SEQ ID n°10 encadrent des séquences hypervariables dont la séquence est spécifique pour

chaque espèce de bactérie du genre *Staphylococcus*. Les séquences encadrées par SEQ.ID. n° 9 et 10 peuvent donc être utilisées à titre de sonde d'espèce des bactéries du genre *Staphylococcus*.

De plus, les séquences SEQ.ID. n° 9 et 10 ont été déterminées comme  
5 encadrant un fragment du gène *rpoB* comprenant une zone dont la longueur variable est d'environ 500 pb et constitue la plus courte séquence spécifique pour chaque espèce de la bactérie du genre *Staphylococcus*.

Les inventeurs ont ainsi pu mettre en évidence des sondes d'espèce pour chacune des 29 espèces de bactérie du genre *Staphylococcus* étudiées  
10 correspondant aux séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 encadrées par les séquences consensus SEQ.ID. n° 9 et 10.

Les séquences consensus SEQ.ID. N° 7 à 10 mises en évidence selon la présente invention, peuvent être utilisées à titre d'amorce d'amplification ou de réaction de séquençage dans des procédés de détection de bactérie du genre  
15 *Staphylococcus* par identification moléculaire.

Les séquences SEQ.ID. n° 7 à 10 permettent donc non seulement de préparer des sondes de genre des bactérie du genre *Staphylococcus* mais aussi de détecter et identifier l'espèce de ladite bactérie par amplification et séquençage en utilisant lesdites séquences comme amorces.

20 Plus précisément, la présente invention fournit un procédé de détection par identification d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Staphylococcus* caractérisé en ce qu'on utilise :

- le gène *rpoB* de ladite bactérie ou un fragment dudit gène *rpoB* de ladite bactérie, comprenant une séquence nucléotidique choisie parmi l'une des  
25 séquences SEQ.ID n°11 à 29 et 31 à 39, les séquences inverses et les séquences complémentaires, ou

- un fragment dudit gène *rpoB* de ladite bactérie, consistant dans la séquence nucléotidique SEQ.ID n°30, la séquence inverse et la séquence complémentaire, ou

30 - un oligonucléotide comprenant une séquence d'au moins 12 motifs nucléotidiques consécutifs, incluses dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, dans lesquelles N représente un nucléotide choisi parmi l'inosine ou un

mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C ou G, les séquences inverses et les séquences complémentaires.

Lesdits oligonucléotides comprennent de préférence de 12 à 35 motifs nucléotidiques, et de préférence encore, lesdits oligonucléotides consistent dans  
5 les séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, les séquences inverses et les séquences complémentaires.

Dans un premier mode de réalisation d'un procédé de détection selon l'invention, on cherche à mettre en évidence la présence d'une bactérie du genre *Staphylococcus* et, dans une première variante, on réalise les étapes dans  
10 lesquelles :

1- on met en contact au moins une sonde de genre comprenant un dit oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, les séquences inverses et les séquences complémentaires, et

15 2- on détermine la formation ou l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde de genre et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine la présence d'une dite bactérie du genre *Staphylococcus* s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

Dans une deuxième variante de réalisation d'un procédé de détection  
20 d'une bactérie du genre *Staphylococcus*, on réalise les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact les amorces d'amplification comprenant desdits oligonucléotides comprenant une séquence d'au moins 12 motifs nucléotidiques incluse dans au moins deux séquences tirées des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, séquences inverses et séquences complémentaires, avec un échantillon  
25 contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, avec :

- comme amorce 5' : un oligonucléotide choisi parmi les oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 ou 9 ou les séquences complémentaires, de préférence un oligonucléotide consistant  
30 dans lesdites séquences complètes, et

- comme amorce 3' : un oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 10 ou 8 ou respectivement une séquence

complémentaire, de préférence un oligonucléotide consistant dans lesdites séquences complètes.

2- on réalise une amplification d'acides nucléiques par réaction de polymérisation enzymatique et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si un produit d'amplification est apparu.

Plus particulièrement dans cette deuxième variante du premier mode de réalisation, on utilise comme amorce 5' un oligonucléotide de séquence SEQ.ID. n° 7 ou 9 ou une séquence complémentaire, et comme amorce 3' un oligonucléotide de séquence SEQ.ID. n° 10 ou respectivement une séquence complémentaire.

Dans un deuxième mode de réalisation du procédé de détection d'une bactérie selon l'invention, on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du genre *Staphylococcus* choisie parmi les espèces *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus pulveris*, *Staphylococcus muscae*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus lentis*, *Staphylococcus kloosii*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus felis*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus aureus subs. aureus*, *Staphylococcus aureus subs. anaerobius*, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus caprae*.

Dans une première variante de ce deuxième mode de réalisation du procédé selon l'invention, on réalise les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie, avec au moins une sonde d'espèce consistant dans un dit fragment de gène comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, les séquences inverses et séquences complémentaires, de préférence un oligonucléotide consistant dans

l'une desdites séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, ou un oligonucléotide de séquence inverse ou complémentaire, et

2- on détermine la formation ou l'absence d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde et les acides nucléiques de l'échantillon.

5 Dans une seconde variante de ce dit deuxième mode de réalisation du procédé selon l'invention dans lequel on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du genre *Staphylococcus* choisie parmi les 29 espèces citées ci-dessus, le procédé comprend les étapes dans lesquelles, dans un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au  
10 moins une dite bactérie :

a) on réalise une réaction de séquençage d'un fragment du gène *rpoB* amplifié d'une dite bactérie donnée à l'aide des amorces nucléotidiques consistant dans des oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans les séquences SEQ.ID. n°7 ou 9 comme amorce 5', et SEQ.ID. n°10 comme amorce  
15 3', de préférence des oligonucléotides consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 ou 9 et 10, ou leurs séquences complémentaires, et

b) on détermine la présence ou l'absence de l'espèce donnée de ladite bactérie en comparant la séquence dudit fragment obtenu avec la séquence du gène complet *rpoB* de ladite bactérie ou la séquence d'un fragment du gène  
20 *rpoB* de ladite bactérie comprenant respectivement lesdites séquences n° 11 à 39 et séquences complémentaires, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si la séquence du fragment obtenue est identique à la séquence connue du genre ou du fragment de gène *rpoB* de ladite bactérie.

Plus particulièrement dans cette seconde variante:

25 - à l'étape a) on réalise les étapes comprenant :

1- une première amplification de l'acide nucléique dudit échantillon avec un couple d'amorces 5' et 3' choisi parmi des oligonucléotides comprenant respectivement les séquences SEQ.ID. n° 7 et respectivement SEQ.ID. n° 10 ou leurs séquences complémentaires, et on détermine l'apparition ou l'absence d'un  
30 produit d'amplification à l'étape 1, et

2- une réaction de séquençage des amplifiats déterminés à l'étape 1 avec les amorces 5' et 3' consistant dans des oligonucléotides comprenant les séquences SEQ.ID. n° 9 et respectivement SEQ.ID. n°10, de préférence

consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 et 10 ou leurs séquences complémentaires, de préférence consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 9 et 10 ou leurs séquences complémentaires, et

- à l'étape b), on compare les séquences obtenues avec respectivement l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 ou leurs séquences complémentaires.

Un autre objet de la présente invention est un gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Staphylococcus*, caractérisé en ce qu'il comprend une séquence telle que décrite dans les séquences SEQ.ID. n° 11 à 29 et 30 à 39.

- Un autre objet de la présente invention est la séquence complète du gène *rpoB* des bactéries *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae*, et *Staphylococcus intermedius* telles que décrites dans les séquences SEQ.ID. n° 3 à 6, comme mentionné précédemment ces fragments de gènes *rpoB* et gènes complets sont utiles notamment pour un procédé selon l'invention.

La séquence complète du gène *rpoB* peut être utilisée pour identifier la bactérie pas seulement par l'étude de sa séquence primaire, mais aussi, par l'étude des structures secondaire et tertiaire de l'ARN messager provenant de la transcription de la séquence complète d'ADN.

- Un autre objet de la présente invention est un dit fragment de gène *rpoB* ou oligonucléotide choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence consistant dans les séquences SEQ ID n° 11 à 39 et parmi les oligonucléotides de séquences inverses et séquences complémentaires tels que définis ci-dessus.

- Un autre objet de la présente invention est un oligonucléotide comprenant une séquence d'au moins 12, de préférence de 12 à 35, motifs nucléotidiques consécutifs incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, dans lesquelles N représente un nucléotide choisi parmi l'inosine et un mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C ou G, et les oligonucléotides de séquences inverses et séquences complémentaires, de préférence consistant dans les séquences SEQ.ID. n° 7 et 10 et les séquences inverses et séquences complémentaires dans lesquelles N représente l'inosine.

Les séquences SEQ ID n° 7 à 39 peuvent être préparées par synthèse chimique en utilisant les techniques bien connues de l'homme du métier et décrites par exemple dans l'article de Itakura K. et al. [(1984) Annu. Rev. Biochem. 53 :323].

5 Une première application d'un oligonucléotide selon l'invention est son utilisation comme sonde pour la détection, dans un échantillon biologique, de bactéries de l'une des espèces du genre *Staphylococcus* qui comprend une séquence nucléotidique d'au moins 12 motifs nucléotidiques consécutifs incluse dans l'une des séquences SEQ ID n° 7 à 39, et leurs séquences inverses ou  
10 complémentaires.

Une sonde comprenant les séquences SEQ.ID. n° 7 à 10 sera utilisée à titre de sonde de genre et une sonde comprenant l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 sera utilisée à titre de sonde d'espèce.

Les sondes selon l'invention peuvent être utilisées, à des fins de  
15 diagnostic, comme mentionné précédemment, par la détermination de la formation ou de l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre la sonde et un acide nucléique cible dans un échantillon, selon toutes les techniques d'hybridation connues et notamment les techniques de dépôt ponctuel sur filtre, dites « DOT-BLOT » [Maniatis et al. (1982) Molecular Cloning,  
20 Cold Spring Harbor], les techniques de transfert d'ADN dites « SOUTHERN BLOT » [Southern E.M., J. Mol. Biol. (1975) 98 :503], les techniques de transfert d'ARN dites « NORTHERN BLOT », ou les techniques dites « sandwich », en particulier avec une sonde de capture et/ou une sonde de détection, lesdites sondes étant capables de s'hybrider avec deux régions différentes de l'acide  
25 nucléique cible, et l'une au moins desdites sondes (généralement la sonde de détection) étant capable de s'hybrider avec une région de la cible qui est spécifique de l'espèce, étant entendu que la sonde de capture et la sonde de détection doivent avoir des séquences nucléotidiques au moins partiellement différentes.

30 L'acide nucléique à détecter (cible) peut être de l'ADN ou de l'ARN (le premier obtenu après amplification par PCR). Dans le cas de la détection d'une cible de type acide nucléique double brin, il convient de procéder à la dénaturation de ce dernier avant la mise en oeuvre du procédé de détection.

L'acide nucléique cible peut être obtenu par extraction selon les méthodes connues des acides nucléiques d'un échantillon à examiner. La dénaturation d'un acide nucléique double brin peut être effectuée par les méthodes connues de dénaturation chimique, physique ou enzymatique, et en particulier par  
5 chauffage à une température appropriée, supérieure à 80°C.

Pour mettre en œuvre les techniques d'hybridation précitées, et en particulier les techniques « sandwich », une sonde de l'invention, appelée sonde de capture est immobilisée sur un support solide, et une autre sonde de l'invention, appelée sonde de détection, est marquée avec un agent marqueur.  
10 Les exemples de support et d'agent marqueur sont tels que définis précédemment.

De manière avantageuse, une sonde d'espèce est immobilisée sur un support solide, et une autre sonde d'espèce est marquée par un agent marqueur.

15 Une autre application d'un oligonucléotide de l'invention est son utilisation comme amorce nucléotidique comprenant un oligonucléotide monocaténaire choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence d'au moins 12 motifs nucléotidiques incluses dans l'une des séquences SEQ ID n° 7 à 39, qui est utilisable dans la synthèse d'un acide nucléique en présence d'une polymérase  
20 par un procédé connu en soi, notamment dans des méthodes d'amplification utilisant une telle synthèse en présence d'une polymérase (PCR, RT-PCR, etc.). En particulier, une amorce de l'invention peut être utilisée pour la transcription inverse spécifique d'une séquence d'ARN messager de bactérie d'une espèce du genre *Staphylococcus* pour obtenir une séquence d'ADN complémentaire  
25 correspondante. Une telle transcription inverse peut constituer le premier stade de la technique RT-PCR, le stade suivant étant l'amplification par PCR de l'ADN complémentaire obtenu. On peut également utiliser les amorces de l'invention pour l'amplification spécifique par réaction de polymérisation en chaîne de la séquence totale de l'ADN du gène *mpoB* d'une espèce du genre *Staphylococcus*.

30 Selon un cas particulier ladite amorce comprenant un oligonucléotide de l'invention comprend en outre la séquence sens ou anti-sens d'un promoteur reconnu par une ARN polymérase (promoteurs T7, T3, SP6 par exemple [Studier FW, BA Moffatt (1986) J. Mol. Biol. 189 :113] : de telles amorces sont



utilisables dans des procédés d'amplification d'acide nucléique faisant intervenir une étape de transcription, tels que, par exemple, les techniques NASBA ou 3SR [Van Gemen B. et al. Abstract MA 1091, 7<sup>th</sup> International Conference on AIDS (1991) Florence, Italy].

5           Un autre objet de l'invention est une amorce nucléotidique comprenant un oligonucéotide monocaténaire choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence comprenant l'une des séquences SEQ ID n° 11 à 29 et 31 à 39, ou de préférence, consistant dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 qui est utilisable pour le séquençage total ou partiel du gène *rpoB* d'une souche  
10           quelconque d'une espèce du genre *Staphylococcus*.

Le séquençage du gène *rpoB* partiel ou complet chez toute bactérie du genre *Staphylococcus* permet l'identification de toute bactérie *Staphylococcus* par analyse bioinformatique de cette séquence et la reconnaissance de nouvelles espèces de bactéries *Staphylococcus* inconnues.

15           De préférence, dans une utilisation comme amorce ou pour le séquençage des gènes *rpoB* on utilise les séquences SEQ ID n°7 à SEQ ID n°10, dans lesquelles N est l'inosine de préférence, les séquences SEQ ID n°7 et SEQ.ID. n° 10.

La présente invention a également pour objet une trousse de diagnostic  
20           utile dans un procédé selon l'invention comprenant au moins un dit fragment de gène dudit oligonucléotide consistant dans les séquences SEQ.ID. n° 7 à 39 et les séquences inverses et séquences complémentaires ou un dit oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, et/ou au moins un dit fragment de gène *rpoB* d'une dite bactérie comprenant les  
25           séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, et les oligonucléotides et fragments de gènes de séquences inverses et séquences complémentaires, tels que définis ci-dessus.

Dans la présente description, on entend par "séquences inverses et séquences complémentaires" les séquences suivantes :

- la séquence inverse de ladite séquence,
- 30           - la séquence complémentaire de ladite séquence, et
- la séquence complémentaire de la séquence inverse de ladite séquence.

Enfin, un dernier objet de l'invention est une sonde de thérapie génique pour traiter les infections provoquées par une souche appartenant à une espèce

du genre *Staphylococcus*, ladite sonde comprenant un oligonucléotide tel que défini précédemment. Cette sonde de thérapie génique, capable de s'hybrider sur l'ARN messager et/ou sur l'ADN génomique desdites bactéries, peut bloquer les phénomènes de traduction et/ou transcription et/ou de réplication.

5 Le principe des méthodes de thérapie génique est connu et repose notamment sur l'utilisation d'une sonde correspondant à un brin anti-sens : la formation d'un hybride entre la sonde et le brin sens est capable de perturber au moins l'une des étapes du décryptage de l'information génétique. Les sondes de thérapie génique sont donc utilisables comme médicaments antibactériens, permettant de lutter contre les infections causées par les bactéries des espèces  
10 du genre *Staphylococcus*.

L'invention sera mieux comprise à l'aide de l'exposé ci-après, divisé en exemples, qui concernent des expériences effectuées dans le but de réaliser l'invention et qui sont données à titre purement illustratif.

15 La figure 1 représente la visualisation des produits d'amplification par coloration au bromure d'éthidium après électrophorèse sur un gel d'agarose obtenu à l'exemple 3.

Exemple 1. Séquence du gène *rpoB* de quatre espèces du genre  
20 *Staphylococcus* : *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae* et *Staphylococcus intermedius*.

La séquence complète du gène *rpoB* des bactéries des espèces *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae* et *Staphylococcus intermedius* a été déterminée par amplification  
25 enzymatique et séquençage automatique direct utilisant des amorces consensus entre les séquences du gène *rpoB* chez *Staphylococcus aureus* (GenBank n° d'accès X64172) *Bacillus subtilis* (GenBank n° d'accès L43593). Cette dernière espèce bactérienne a été choisie comme l'espèce Gram-positive de bas contenu en guanosine plus cytosine la plus proche des espèces du genre  
30 *Staphylococcus* (proximité phylogénétique basée sur la comparaison des séquences du gène 16S rADN).

Plusieurs amorces consensus potentielles ont fait l'objet d'investigations pour obtenir un fragment susceptible de conduire à la séquence complète de gènes *rpoB* par élongations successives à partir d'une série d'amorces spécifiques.

5 Ces amorces consensus ont les séquences suivantes :

SEQ ID n°1 : 5'-AAA CTT AAT AGA AAT TCA AAC TAA A -3'

SEQ ID n°2 : 5'-ATC TGG TAA AGC ATT ACC AA - 3'

et ont permis d'obtenir un premier fragment F1 d'une longueur de 1.007 paires de bases chez ces quatre espèces. A partir de l'alignement de la séquence de ce premier fragment F1 sur les séquences de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, un grand nombre de tentatives avec des amorces théoriquement ou potentiellement appropriées ont échoué et finalement une succession d'amorces oligonucléotidiques a été déterminée pour permettre d'amplifier et de séquencer par étapes successives la totalité du gène *rpoB* chez les quatre espèces

10 *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae* et *Staphylococcus intermedius*. La séquence, la position relative à la séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus aureus* dans GenBank (numéro d'accès X64172) et la température d'hybridation de ces amorces sont

15 présentées dans le tableau suivant :

Amorce	Sequence de l'amorce (5' - 3')	Position	Tm (°C)
30 F	GGTTTAGGATTAAAAGATGC	30-50	41
192 F	GAAGAAGTTGGAGCTACTG	192-211	44
806 F	AATAAGAGCAGGGAAAGAAAC	806-827	43
920 F	AAAGAAAAGAATGAATGAACTT	920-942	39
1165 F	TATGCTTATGGTATTTAGCTA	1165-1186	39
1302 F	AAACTTAATAGAAATTCAAACATAA	1302-1327	58
1450 F	GTTCAAACGATAAATAGAGAA	1450-1471	39
1741 F	GAAACAGATGCTAAAGATGT	1741-1761	41
1850 F	CCATATACTGCGAGTGGGAA	1850-1870	47
2245 F	TAGAAATTCAATCAATTAAGTATATG	2245-2271	62
2309 F	TTGGTAATGCTTTACCAGAT	2309-2329	41
2334 F	TGCATTACACCAGCAGATATCATTG	2334-2359	70

2412 F	GATGATATTGACCATTTAGG	2412-243	41
2534 F	TGAAAGAATGTCAATTCAAGA	2534-2555	39
2663 F	AAACCCATTAGCTGAGTT	2663-268	38
2995 F	TGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTG	2995-3119	74
2924 F	AAGATAGCTATGTTGTAGCA	2924-2944	41
3200 F	CTTAGAGAACGATGACTCTAA	3200-3221	43
3498 F	TAGTTGGTTTCATGACTTGGGA	3498-3520	46
3550 F	TTGAAAGTCCAACAAAGCAA	3550-3570	38
3843 F	GGTAAAGTAACGCCTAAAGGT	3843-3864	45
4494 F	TGGAGGTATGGGCACTTGAA	4494-4514	47

Les amplifications ont été réalisées sous un volume final de 50 µl comprenant 2,5 x 10<sup>-2</sup> U de *Taq* polymérase, 1 X de tampon de *Taq* et 1,8 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de dATP, dTTP, dGTP, dCTP et 0,2 µM de chaque amorce. Elles ont été

5 réalisées suivant le programme suivant : 35 cycles comportant une étape de dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, hybridation des amorces à 52°C pendant 30 secondes et extension à 72°C pendant 60 secondes. Les produits d'amplification ont été purifiés sur colonne puis séquencés à l'aide des amorces oligonucléotidiques de séquençage présentées dans le tableau suivant :

10

1759R	ACATCTTTAGCATCTGTTTC	1779-1759	48
1460 R	ATCGTTTGAACGCCACTCTT	1480-1460	45
1910 R	TCATAGTAAGTTTGCGCCAT	1930-1910	43
2309 R	ATCTGGTAAAGCATTACCAA	2329-2309	41
2334 R	CAATGATATCTGCTGGTGTAATGCA	2354-2334	68
2432 R	CCTAAATGGTCAATATCATC	2452-2432	41
2573 R	CGAATATTAATTAATTGTTG	2593-2573	34
2892 R	GTGATAGCATGTGTATCTAAATCA	2912-2892	64
2915 R	TA ACTATCTTCTTCATCAGC	2935-2915	41
2924 R	TGCTACAACATAGCTATCTT	2944-2924	41
2995 R	CAACTTCATCATCCATGAAACGACCA	3015-2995	74
Cm32b	ATGCAACGTCAGGCCGTTCCG	3211-3191	64

3321 R	AGACGACGAACAGAATTTCA	3341-3321	56
3610 R	GCTCGAATGATAACGTGATT	3630-3610	43
4139 R	ACTTGTCCAATGTTTCATACG	4159-4139	44
4502 R	CATATGCTTCAAGTGCCCATATA	4523-4502	45
4508 R	CCAAGTGGTTGTTGTGTAAC	2428-4508	45
4871 R	TTTAGAGCTTTCCTGTTTG	4891-4871	41
5000 R	CACCATATGACCAAGAACGAA	5021-5000	45
5018 R	CAATCAAGGAGCCTACCTCCTT	5040-5018	50
5030 R	GAAATTATTTACATCAATCAA	5051-5030	36
5041 R	TAATCTCTTCTTCATCAGC	5061-5041	41
5085 R	CCCAGTCTTTTGTAGGTCCG	5105-5085	49
5188 R	CCCATCTTTACGACGTAC	5208-5188	47

Les réactions de séquençage ont été réalisées en utilisant les réactifs du kit ABI Prism dRhodamine Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer Applied Biosystems) selon les recommandations du fournisseur

5 suivant le programme suivant : 30 cycles comprenant une étape de dénaturation à 94°C pendant 10 sec., une étape d'hybridation de l'amorce à 50°C pendant 10 sec. et une étape d'extension à 60°C pendant 2 minutes. Les produits de séquençage ont été séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide sur un séquenceur 377 DNA Sequencer (Perkin) et analysés pour former des

10 séquences consensus par le logiciel Sequence Assembler (Applied Biosystems). Cette approche nous a permis de déterminer la séquence complète du gène *rpoB* chez quatre espèces du genre *Staphylococcus* :

SEQ ID N°3 : Séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus*

15 *saccharolyticus*. Cette séquence mesure 3.791 paires de bases et possède un contenu en cytosine plus guanosine de 36,8% est déposée dans GenBank sous le numéro GenBank accession AF325871.

5'ATGAACTTAATAGAAATTCAAATAAATCTTATGATTGGTTCCTTAAAGAA  
GGGTTATTAGAAATGTTTAGAGACATTTACCAATTGAAGATTTACAGGCA  
20 ACCTATCTTTAGAATTTGTAGATTATAGATTAGGTGAACCAAATTATGATTTA

GAAGAATCTAAAAATCGTGACGCTACTTATGCTGCACCTCTTCGTGTCAAAG  
TACGTCTCATTATTAAGAAACAGGCGAAGTAAAAGAACAAGAAGTCTTCAT  
GGGTGATTTCCCATTAATGACAGACACAGGTACATTTGTTATCAATGGTGCT  
GAGCGTGTTATCGTGTCTCAATTAGTACGTTACCATCTGTTTATTTCAACG  
5 AAAAAATTGATAAAAACGGTCGTGAAAATTATGATGCGACTATTATTCCTAAC  
CGTGGTGCTTGGTTAGAATATGAAACAGATGCTAAAGATGTCGTTTATGTTT  
GTATCGATAGAACACGTAAATTACCATTAACTGTATTGTTACGTGCGCTAGG  
TTTCTCAACTGATCAAGAAATCGTTGATTTAATAGGAGACAGTGAATATTTAC  
GTAATACATTAGAAAAAGATGGAACCTGAAAATACAGAACAAGCTTTATTAGA  
10 AATTTATGAACGTTTTCGTCCTGGCGAACCACCAACAGTAGAAAATGCTAAA  
AGCTTATTATATTCACGTTTCTTCGATCCTAAACGCTATGATTTAGCAAGTGT  
AGGTCGTTATAAAGCTAACAAAAAGTTACATTTAAACACCGTTTATTTAATC  
AAAACTAGCAGAACCAATTGTTAATAGTGAAACAGGTGAGATTGTAGCGGA  
AGAAGGTACTGTACTTGATCGTCGTAACTAGATGAAATCATGGACGTATTG  
15 GAGACAAACGCTAATAGCGAAGTCTTTGAACTTGAAGGTAGTGTCAATTGATG  
AACCAGTAGAAATTCAATCAATTAAGTATATGTTTCTAATGATGAAGAAGGT  
CGAACTACTACTGTTATTGGTAATGCATTACCAGACTCAGAAGTTAAATGTAT  
TACTCCGGCTGATATTATCGCCTCAATGAGTTACTTCTTTAACTTATTGAATG  
GAATTGGTTATACAGATGATATTGACCACTTAGGTAATCGTCGTTTACGTTT  
20 AGTTGGTGAATTACTACAAAAACCAATTCCGTATCGGTTT(SEQIDN°7)GTCTA  
GAATGGAACGTGTTGTACGTGAGAGAATGTCAATTCAAGACACTGATTCTAT  
CACTCCACAACAATTAATTAATATTCGTCCAGTCATTGCATCTATTAAGAAT  
TTTTTGGTAGTTCTCAATTATCTCAATTCATGGACCAAGC(SEQIDN°9)AAAC  
CCATTAGCTGAGTTGACTCATAAACGTCGTTTATCAGCTCTAGGACCTGGT  
25 GGTTTAACTCGTGAACGCGCTCAAATGGAAGTACGTGACGTGCATTATTCT  
CACTACGGTCGTATGTGCCCTATTGAAACACCTGAGGGCCCAAACATTGG  
ATTAATTAACCTCATTATCTAGTTATGCAAGAGTAAATGAATTTGGTTTTATT  
GAAACACCTTATCGTAAAGTTGATTTAGATACTAATTCAATCACTGACCAA  
ATTGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTTGCACAAGCA  
30 AACTCACGTCTTGATGAAAATGGGTGCTTCTTAGATGATGAAGTTGTTTGT  
CGTTTTTCGTGGCAATAACACAGTGATGGCTAAAGAAAAAATGGACTATAT  
GGACGTATCACCTAAACAAGTAGTTTCAGCAGCTACTGCATGTATCCCATT  
CTTAGAAAACGATGACTCAAACCGAGCATTAAATGGGTGCAAACATGCAAC

**GTCAAGCAGTACCATTAATGAACCCAGAAGCGCCATTTGTTGGAACAGGT**  
**ATGGAACATGTAGC(SEQIDN°10)AGCGCGTGA**CTCAGGTGCAGCAATTACT  
GCTAAGCATAGAGGACGTGTTGAACATGTTGAGTCTAATGAAGTTTTAGTTC  
GTCGTTTAGTAGAAGAAAATGGTATTGAACATGAAGGTGAATTAGATCGCTA  
5 TCCATTAGCAAAATTCAAACGTTCAAACCTCTGGTACATGTTATAACCAACGC  
CCAATTGTTTCTGTTGGAGACGTTGTTGAATATAACGAAATTTTAGCAGACG  
GTCCTTCAATGGAAGTAGGTGAAATGGCTTTAGGTCGTAACGTAGTTGTAG  
**GTTTCATGACTTGGGACGG(SEQIDN°8)**TTATAACTATGAGGATGCCGTTATC  
ATGAGCGAACGTTTAGTTAAAGATGATGTCTATACATCTATTCATATCGAAGA  
10 ATACGAATCAGAAGCACGTGACACTAAATTAGGACCTGAAGAAATTACTCGT  
GATATTCCTAATGTGTCTGAAAGTGCGCTTAAAACTTAGACGATCGTGGTA  
TCGTTTATGTTGGTGCCGAAGTTAAAGATGGTGACATCTTAGTAGGCAAAGT  
AACGCCTAAAGGTGTAACGGAACTAAACAGCAGAAGAAAGATTATTACATGCT  
ATTTTCGGTGAAAAGGCTCGTGAAGTTCGTGATACTTCATTACGTGTACCAC  
15 ATGGTGCAAGGGGGCATCGTATTAGATGTAAAAGTCTTCAACCGTGAAGAGG  
GCGATGACACTTTATCTCCTGGTGTAATCAATTAGTACGTGTTTATATCGTT  
CAAAAACGTAAAATTCATGTAGGGGATAAAATGTGCGGTCGTCATGGTAATA  
AAGGTGTTATTTCTAAAATTGTTCTGAAGAAGATATGCCATACTTACCTGAT  
GGTCGACCAATCGACATCATGTTAAATCCACTTGGTGACCTTCACGTATGA  
20 ACATTGGACAAGTGCTAGAATTACACTTAGGTATGGCTGCTAAAACTTAGG  
CATCCACATTGCATCACCAGTATTTGATGGTGCTAATGATGATGATGTTTGG  
TCTACAATCGAAGAGGCCGGCATGGCACGTGATGGTAAGACTGTATTATAT  
GATGGGCGTACGGGTGAACCGTTTGATAACCGTATTTCTGTAGGTGTAATG  
TACATGCTTAAACTTGCTCACATGGTTGATGACAAATTGCATGCACGTTCAA  
25 CAGGACCATACTCACTCGTTACACAACAACCACTCGGTGGTAAAGCACAATT  
TGGTGGACAACGTTTCGGTGAGATGGAGGTATGGGCACTTGAAGCATATGG  
TGCTGCTTATACTTTACAAGAAATCTTAACTTATAAATCTGACGATACAGTAG  
GACGTGTTAAACTTACGAATCTATCGTTAAAGGTGAAAACATCTCTAGACC  
AAGTGTTCTGAGTCATTCCGAGTACTGATGAAAGAATTACAAAGTTTAGGA  
30 TTAGATGTTAAAGTAATGGATGAGCATGATAATGAAATTGAAATGGCAGATG  
TTGATGATGAAGATGCAACGGAACGCAAAGTAGATTTACAACAAAAAATGC  
TCCGGAATCACAAAAAGAAACAACTGATTAATAAGCACTTAAGATAAATGAA  
TACTTAAAGGGTATGAAATGATTATCATTTCAACTTCTTTAGGTATT

CAATGAAAGTAATCAATCAAATAGCACAGCTAATCTAAATTGAAGGAGGTAG  
GCTCCTTGATTGATGTAAATAATTTCCATTATATGAAAATAGGATTAGCTTCA  
CCTGAAAAGATTCTGTTCTTGGTCATATGGTGAAGTTAAGAAACCTGAAACAA  
TAAACTATCGTACTTTAAAGCCAGAAAAAGATGGTCTTTTCTGTGAAAGAATT  
5 TTCGGACCTACAAAAGACTGGGAAATTTTAA-3'

SEQ ID N°4 : Séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus lugdunensis*

Cette séquence mesure 3.855 paires de bases et possède un contenu en  
cytosine plus guanosine de 36,4% est déposée dans GenBank sous le numéro  
10 GenBank accession AF325870.

5'ATGTCTTATGATTGGTTCCTAAAGAAGGTTTACTAGAAATGTTCCGTGAT  
ATCTCACCAATTGAAGATTTACAGGTAACCTATCATTAGAGTTTGTAGATTA  
CAGATTAGGTGAACCAAAGTATGATTTAGAAGAATCGAAAAATCGTGACGCT  
ACTTATGCTGCACCTCTTCGTGTTAAAGTGCGTCTCGTTATAAAAGAAACAG  
15 GTGAAGTTAAAGAGCAAGAAGTATTTATGGGAGACTTCCCATTAATGACAGA  
TACAGGTACGTTTGTTATTAATGGTGCAGAGCGTGTTATTGTATCGCAATTA  
GTACGTTACCATCCGTTTACTTTAATGAAAAAATTGACAAAAACGGACGAG  
AAAATTATGATGCTACAATCATTCTAACCGTGGTGCCTGGTTAGAATACGA  
AACAGATGCTAAAGATGTTGTCTATGTTTCGTATTGATAGAACTCGTAAATTG  
20 CCATTAAGTGTCTTATTACGCGCATTAGGCTTTTCAACTGATCAAGAAATTGT  
TGAGTTGTTAGGCGATAACGAATACTTGCGTAATACATTAGAAAAAGACGGA  
ACAGAAAACACTGAACAAGCGTTATTAGAAATTTATGAACGTTTACGTCCTG  
GTGAACCACCAACAGTTGAAAATGCAAAAAGTTTATTATATTCTCGCTTCTTC  
GATCCGAAACGCTATGATTTAGCAAGCGTTGGACGTTATAAAGCGAACAACAAA  
25 AATTGCATCTAAAACACCGTTTATTTAATCAAAAATTAGCAGAGCCTATCGTA  
AACAGCGAAACAGGTGAAATTGTTGCTGAAGAAGGTACTGTATTAGATCGTC  
GCAAATTAGACGAAATTATGGACGTTCTTGAAACAAATGCGAATAGTGAAGT  
ATTCGAATTAGAAGGAACAGTAATAGACGAACCGGTTGAAATTCAATCAATC  
AAAGTCTATGTACCAAATGATGAAGAAGGTTGTACAACAACGATAATTGGTA  
30 ATGCTTTACCAGATTCAGAAGTGAAATGTATCACACCTGCAGATATTATTTCT  
TCTATGAGTTACTTCTTCAACTTATTAGCTGGCATTGGTTACACGGATGATAT  
CGATCATTTAGGTAACCGTCGTTTACGTTTCAAGTTGGTGAGTTATTGCAAAAC  
CAATTCCGTATTGGTTT(SEQ ID N°7)ATCAAGAATGGAACGTGTTGTGCGT



GAAAGAATGTCAATTCAAGATACCGAATCTATCACACCACAACAATTAATTAA  
TATTAGACCAGTTATTGCATCAATTAAAGAATTCTTTGGTAGTTCTCAATTAT  
CACAATTCATGGACCAAGC(SEQIDN°9)TAACCCATTAGCAGAATTAACACA  
CAAACGTCGTTTATCTGCGTTAGGACCTGGTGGTTTAACACGTGAACGTG  
5 CACAAATGGAAGTTCGTGACGTGCATTATTCTCACTATGGCCGTATGTGTC  
CGATTGAAACACCAGAGGGTCCAAACATTGGTTTGATTAACCTATTATCTA  
GTTATGCGCGTGTCAACGAGTTTGGCTTTATTGAAACGCCTTATCGTAAAG  
TAGATATTGATACAAATGCAATCACAGATCAAATTGACTACTTAACTGCTG  
ATGAAGAAGACAGTTATGTCGTTGCACAAGCGAACTCTCGCCTTGATGAA  
10 AATGGTCGTTTCTTAGATGATGAAGTAGTATGCCGTTTCCGCGGTAATAAT  
ACTGTTATGGCTAAAGAAAAAATGGACTACATGGATGTATCTCCTAAACAA  
GTTGTTTCAGCTGCGACAGCATGTATTCCATTCTTAGAGAACGATGACTCT  
AACCGTGCAATTGATGGGTGCAAACATGCAACGTCAAGCAGTTCCGTTGAT  
GAACCCTGAAGCGCCGTTTCGTAGGAACAGGTATGGAGCATGTTGC(SEQID  
15 N°10)TGCTCGTGACTCTGGTGCTGCGATTACTGCAAAATACAGAGGTCGTGT  
AGAACACGTTGAATCTAATGAAATCCTAGTGCGTCGATTAATTGAAGAAAAT  
GGAAAAGAATATGAAGGCGAACTTGATCGCTATCCATTAGCGAAGTTTAAAC  
GCTCTAACTCTGGTACATGTTATAACCAACGTCCAATTGTTTCTATTGGCGA  
CGTTGTAGAATACAATGAAATTCTAGCTGACGGTCCATCAATGGAGCTTGGT  
20 GAAATGGCATTAGGCCGCAACGTTGTAGTTGGTTTCATGACTTGGGACGG(  
SEQIDN°8)CTATAACTATGAAGATGCTGTCATCATGAGTGAACGTTTAGTCAA  
AGATGACGTTTACACATCTATTTCATATTGAAGAATATGAATCAGAAGCACGT  
GATACGAAATTAGGACCTGAGGAAATCACACGTGATATTCCTAACGTCTCTG  
AAAGTGCACTTAAAACTTAGACGATCGCGGTATTGTTTATGTAGGTGCAGA  
25 AGTTAAAGATGGCGATATTTTAGTAGGTAAAGTAACGCCTAAAGGTGTCACA  
GAGCTAACAGCTGAAGAACGTCTATTACATGCAATCTTTGGTGAAAAAGCAC  
GTGAAGTGCGTGACACTTCATTGCGTGTACCACATGGTGCTGGCGGTATTG  
TGCTAGATGTTAAAGTCTTCAACCGTGAAGAAGGAGATGACACACTTTCTCC  
AGGTGTTAACCAATTAGTACGCGTATATATTGTGCAGAAACGTAAAATACAC  
30 GTTGGGGACAAAATGTGTGGTTCGTATGGTAACAAAGGTGTCATTTCTAAG  
ATTGTTCCAGAAGAGGACATGCCTTATTTACCAGATGGACGTCCAATTGATA  
TTATGTTAAACCCACTTGGTGTGCCATCACGTATGAACATTGGACAAGTTCT  
AGAGTTGCATTTAGGTATGGCTGCTAAAACTTAGGTATTCATGTTGCGTCA

CCAGTATTTGATGGTGCGAACGATGAAGATGTATGGTCAACAATTGAAGAA  
GCTGGTATGGCACGTGACGGTAAAACCGTATTATATGATGGCCGTACAGGT  
GAGCCATTCGACAACCGTATCTCAGTTGGAGTTATGTACATGCTTAAACTTG  
CACATATGGTTGATGACAAATTACATGCTCGTTCAACAGGTCCATACTCATT  
5 AGTTACACAACAACCACTTGGTGGTAAAGCACAATTTGGTGGACAACGTTTC  
GGTGAGATGGAAGTATGGGCACTTGAAGCTTATGGTGCTGCCTATACATTG  
CAAGAAATCCTTACTTATAAATCTGATGATACGGTAGGCCGTGTTAAACAT  
ACGAAGCTATCGTTAAAGGTGAAAACATTTCTAGACCAAGTGTTCTGAATC  
ATTCCGTGTATTGATGAAAGAACTTCAAAGTTTAGGTTTAGATGTGAAAGTG  
10 ATGGATGAGCACGATAACGAAATCGAAATGGCAGATGTTGAAGATGAAGAT  
ACAACAGAGCGCAAAGTAGATTTGCAACAAAAAGATGCGCCACAATCTCAA  
CAAGAAGAACTGCTGATTAGTCAATATATTAGATATAAGGAATGGTGTTAG  
GAACAAGTGCTACGGATGTTTAAACATAATGTGTTTTGAGTTGCATCCATCC  
TAACCTTTCCTTAATTTCAATAGATGTAAATCAATCAAATGGCACAGCTAATC  
15 TAAATTGAAGGAGGTAGGCTCCTTGATTGATGTAAATAATTTCCATTATATGA  
AAATCGGTTTAGCCTCACCTGAAAAAATTCGTTTCATGGTCATATGGTGAAGT  
GAAAAAACCAGAAACAATTAATTATCGTACGTTAAAACCAGAAAAAGATGGC  
TTATTCTGTGAGAGAATATTCGGCCCAACTAAAGATTGGGAATGTAGTTGTG  
GTAAATACAAACGTGTGCGTTATAAAGGCATGGTTTGTGATAGATGTGGTGT  
20 TGTA – 3'

SEQ ID N°5 : Séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus caprae*

Cette séquence mesure 3.698 paires de bases et possède un contenu en  
cytosine plus guanosine de 37,4% est déposée dans GenBank sous le numéro  
25 GenBank accession AF325868.

5'ATGAACTTAATAGAAATTCAACTAAATCTTACGATTGGTTCCTTAAAGAA  
GGTTTATTAGAAATGTTTAGAGACATTTCTCCAATTGAAGATTTACAGGTAA  
CCTATCTTTAGAATTTGTAGATTATAGATTAGGTGATCCGAAATACGATTTAG  
AAGAATCTAAAAACCGTGACGCTACTTATGCTGCACCTCTTCGTGTGAAAGT  
30 ACGTCTCATTATTAAAGAAACAGGCGAAGTGAAGGAACAAGAAGTCTTCATG  
GGTGATTTCCCATTAATGACTGACACAGGTACATTCGTTATCAATGGTGCTG  
AACGTGTTATCGTTTCTCAATTAGTACGTTACCATCCGTTTATTTCACGAG  
AAAATTGATAAAAATGGACGCGAAAACACTACGATGCAACTATCATTTCCTAACC

GTGGTGCTTGGTTAGAATATGAAACAGATGCGAAAGATGTAGTATACGTTCG  
TATCGATAGAACTCGTAAATTACCATTTGACAGTATTATTACGTGCACTAGATT  
TCTCAACTGATCAAGAAATTGTTGATTTACTAGGTGAGAGTGAATATTTACGT  
AATACATTAGAAAAAGATGGTACTGAAAATACTGAACAAGCATTATTAGAAAT  
5 TTATGAACGTTTACGTCCTGGCGAACCACCAACAGTTGAAAATGCTAAAAGC  
TTATTATACTCACGCTTCTTCGACCCTAAACGTTATGATTTAGCAAGTGTTGG  
TCGTTACAAAGCTAACAAAAAGTTACATTTAAAACACCGTTTATTTAATCAA  
AATTAGCAGAACCTATTGTTAATAGTGAAACAGGTGAGATTGTAGCTGAAGA  
AGGTACTGTATTAGATCGTCGTAAAATTGACGAAATCATGGACGTTTTAGAA  
10 ACAAACGCTAACAGTGAAGTTTTTCGAATTAGAAGGTAGCGTTATTGACGAAC  
CTGTTGAAATTCAATCAATTAAAGTCTATGTACCTAATGATGAAGAAGGTGCG  
CACACTACTGTAATTGGTAATGCATTACCAGATTCAGAAGTTAAATGTATTA  
CTCCAGCTGATATCATTGCGTCAATGAGTTATTTCTTCACTTATTAATGGT  
ATTGGTTATACAGATGATATCGACCACTTAGGTAACCGTCGTTTACGTTTACG  
15 TTGGTGAACTTTTACAGAAACCAATTCCGTATCGGTTT(SEQIDN°7)ATCAAG  
AATGGAACGTGTTGTTTCGTGAAAGAATGTCTATTCAAGACACTGATTCAATC  
ACACCACAACAATTAATCAACATTTCGTCCGGTTATTGCGTCTATTAAAGAATT  
CTTCGGAAGTTCACAATTATCGCAATTCATGGACCAAGC(SEQIDN°9)TAAC  
CCATTAGCTGAGTTGACTCATAAACGTCGTCTATCAGCATTAGGACCTGGT  
20 GGTTTAACGCGTGAACGTGCCCAAATGGAAGTGCGTGACGTTCACTATTC  
TCACTATGGCCGTATGTGTCCAATCGAAACACCTGAGGGACCAAACATTG  
GTTTAATCAACTCATTATCAAGTTATGCACGAGTAAATGAATTTGGTTTTAT  
TGAAACACCTTATCGTAAAGTAGATTTAGATACGAATTCTATCACTGACCA  
AATTGATTACTTAAGTCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTTGCCCAAGC  
25 GAACTCTCGTTTAGACGAAAATGGTCGTTTCTTAGATGACGAAGTTGTTTG  
TCGTTTCCGTGGTAATAACACAGTTATGGCTAAAGAGAAAATGGACTACAT  
GGATGTATCTCCTAAACAAGTAGTATCTGCAGCGACAGCTTGTATTCCATT  
CTTAGAAAATGATGACTCTAACCCTGCATTAATGGGTGCGAACATGCAAC  
GTCAAGCAGTACCATTGATGAATCCAGAAGCGCCATTTGTTGGTACAGGT  
30 ATGGAACATGTAGC(SEQIDN°10)CGCACGTGATTCAGGTGCAGCGATTACT  
GCTAAACATAGAGGACGCGTTGAACACGTTGAATCTAACGAAGTATTAGTAC  
GTCGTTTAGTAGAAGAAAACGGCACTGAACATGAAGGTGAATTAGATCGTTA  
CCCATTAGCTAAATTCAAACGTTCAAACCTCTGGTACATGTTATAACCAACGT

CCAATTGTTTCTGTTGGTGATGTAGTAGAATACAATGAAATTTAGCTGACG  
GTCCTTCAATGGAATTAAGGTTGAAATGGCATAGGGACGTAACGTTGTTAGT  
TGGTTTCATGACTTGGGACGG(SEQIDN°8)TTATAACTACGAGGATGCTGTTA  
TCATGAGTGAACGTTTAGTTAAAGATGACGTTTATACTTCTATTACATTGAA  
5 GAATATGAATCTGAAGCTCGTGATACTAAGTTAGGACCTGAAGAAATTACTC  
GTGACATTCCTAACGTATCTGAAAGTGCACTTAAAACTTAGACGATCGCGG  
TATCGTTTATGTTGGTGCTGAAGTTAAAGACGGTGACATCTTAGTAGGTAAA  
GTAACGCCTAAAGGTGTAAGTGAATTAACAGCTGAAGAAAGATTATTACATG  
CTATCTTCGGTGAAAAGGCTCGTGAAAGTCCGCGATACATCATTACGTGTAC  
10 CACATGGTGCAGGCGGTATCGTTCTAGATGTTAAAGTATTCAATCGTGAAGA  
AGGCGATGATACGTTATCTCCAGGTGTAAACCAATTGGTACGTGTTTATATC  
GTTCAAAAACGTAAAATTCATGTAGGGGACAAAATGTGTGGTCGTCACGGTA  
ACAAAGGTGTTATCTCTAAAATTGTTCCCTGAAGAAGATATGCCATACTTACCA  
GATGGTCGTCCAATCGACATCATGTTAAACCCACTTGGTGTACCATCACGTA  
15 TGAACATCGGACAAGTACTTGAGTTGCATTTAGGTATGGCTGCTAAGAACTT  
AGGCATCCATGTAGCATCTCCAGTATTCGATGGTGCAAACGATGATGATGTA  
TGGTCAACAATTGAAGAAGCAGGTATGGCTCGTGATGGTAAACTGTATTAT  
ACGATGGACGTACAGGTGAACCATTCGATAACCGTATTTCTGTAGGTGTCAT  
GTACATGCTTAACTTGCTCACATGGTTGACGATAAATTACACGCACGTTCA  
20 ACTGGACCATACTCACTTGTTACACAACAACCACTTGGTGGTAAAGCACAAT  
TCGGTGGTCAACGCTTCGGTGAGATGGAGGTATGGGCACTTGAAGCATATG  
GTGCTGCATACACATTACAAGAAATCTTAACTTATAAATCTGACGATACAGTA  
GGTCGTGTTAAACTTACGAATCTATCGTTAAAGGTGAAAATATCTCTAGAC  
CAAGTGTTCCAGAATCATTACAGAGTATTGATGAAAGAATTACAAAGTTTAGG  
25 ATTAGATGTTAAAGTGATGGACGAGCAAGACAACGAAATTGAAATGGCGGA  
CGTTGATGATGAAGATGCAACTGAACGCAAAGTAGATTTACAACAAAAAAT  
GCTCCCGAATCACAAAAAGAAACAACTGATTAATAAGCACTTAAGATAAATG  
AATCCTAAAGAGGTTATGAGATGGTTGCCATTTCAACCTCTTTAAGGTATTC  
GATTTCAATGAATGTAAATCAATCAAATAGCACAGCTAATCTAAATTGAAGGA  
30 GGTAGGCTCCTTGATTGATGTAAATAATTTCCATTATATGAAAATAGGATTAG  
CTTCACCTGAAAAAATTCGTTCTTGGTCTTATGGTGAAGTTAA – 3'

SEQ ID N°6 : Séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus intermedius*

Cette séquence mesure 3.851 paires de bases et possède un contenu en cytosine plus guanosine de 39,2%, elle est déposée dans GenBank sous le numéro GenBank accession AF325869).

5'ATGTAAACTTAATAGAAATTCMAACTAAATCGTATGATTGGTTCTTAAAAGA  
5 AGGTTTATTAGAAATGTTCCGTGATATTTCTCCTATTGAAGACTTCACGGGTA  
ATCTTTCATTAGAATTTGTTGATTATAGATTAGGTGAACCAAAGTATGATTTA  
GAAGAATCAAAAAACCGTGATGCAACATACGCGGCACCATTACGTGTGAAA  
GTTTCGTTTAATCATTAAAGAAACAGGCGAAGTGAAAGATCAAGAAGTATTTA  
TGGGTGATTTCCCATTAATGACAGAAACAGGTACTTTTGTGATTAAACGGGGC  
10 AGAACGTGTTATCGTATCACAATTAGTCCGTTACCATCTGTATACTTCAATG  
AAAAATTAGATAAAAACGGATGCGTGAATTATGATGCGACAGTCATTCCTAA  
CCGTGGTGCTTGGTTGGAATATGAAACAGATGCGAAAGATGTCGTTTATGT  
GCGTATCGATAGAACGAGAAAGTTACCATTAAACAGTATTATTACGTGCGTTA  
GGTTATTCAACAGACCAAGAAATTATTGAATTAATTGGGGATAATGAATATTT  
15 ACGTAATACATTAGAAAAAGATAGCACAGAAAATACAGAGCAAGCATTACTT  
GAAATTTATGAACGTTTACGTCCAGGTGAACCACCTACTGTAGAAAACGCAA  
AAAGCTTATTATACTCACGTTTCTTTGACCCTAAACGTTATGATTTAGCAAGC  
GTTGGACGTTATAAAGCAAACAAAAAGTTACATTTAAAACACCGCCTATTCA  
ATCAAAAATTAGCTGAACCGATCGTTAATACTGAAACAGGCGAAATTGTTGC  
20 TGAAGAAGGCACTGTTTTAGATCGTCGTAAATTAGATGAAATTATGGACGTT  
CTTGAAACAAATGCGAATGCACAAGTTTATGAACATTCCAAACGGATCATTG  
ATGAGCCAGTAGAAATTCAATCAATTAAGTATATGTACCGAATGATGATGA  
AGAACGTACAACAACAGTTATTGGTAATGCATTCCCAGATTCAGAAGTGAAA  
TGTATTACACCGGCTGATATTGTGGCATCTATGTCATACTTCTTCAACCTATT  
25 ACATGGTATTGGTTACACAGACGATATTGACCACCTTGGTAACCGCCGTCTA  
CGTTCAGTTGGTGAGTTGTTACAAAAACCAATTCCGTATCGGTTT(SEQIDN°7)  
ATCAAGAATGGAACGTGTGGTACGTGAAAGAATGTCTATTCAAGATACAGAC  
TCTATCACACCGCAACAATTAATTAATTTCGTCCAGTGATTGCATCAATTAA  
AGAGTTCTTTGGTAGCTCGCAATTATCTCAATTCATGGACCAAGC(SEQ ID  
30 N°9)GAACCCACTTGCTGAGTTGACTCACAAACGTCGTCTATCAGCATTAGG  
ACCTGGTGGTTTAACGCGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTGCGTGACGTAC  
ACTACTCTCACTATGGTCGTATGTGTCCAATCGAAACACCTGAGGGACCA  
AACATTGGTTTGATCAACTCATTATCTAGTTATGCACGTGTGAACGAATTT

GGTTTTATCGAAACACCATATCGTAAAGTTGATATTGAAACAAATACGATT  
ACTGACCAAATCGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTC  
GCACAAGCGAACTCACGTCTTGATGAAAACGGTCGCTTTATTGATGATGA  
GATTGTATGTCGTTTCCGTGGTAACAACACAACGATGGCGAAAGAAAAAA  
5 TGGACTACATGGACGTATCGCCGAAACAAGTTGTATCAGCTGCGACAGCG  
TGTATCCCATTCTTAGAAAACGATGACTCTAACCGTGCGTTAATGGGTGCG  
AACATGCAGCGTCAAGCGGTACCGTTGTTAAACCCTGAATCTCCATTTGTA  
GGTACAGGTATGGAACACGTTGC(SEQIDN°10)TGCACGTGACTCAGGTGCT  
GCTGTCAATTTCTAAATATCGCGGTCGTGTTGAACATGTCCAATCTAGCGAGA  
10 TTTTAGTCCGTCGTTTAGTTGAAGAAAACGGTCAAGAAGTAGATGGTACGTT  
AGATCGTTATCCATTAGCGAAATTTAAACGTTCAACTCAGGTACATGTTATA  
ACCAACGTCCAATCATCGCAAAGGTGACATTGTGGAAAAAGGCGAAATCC  
TTGCTGATGGTCCTTCAATGGAACCTGGTGAAATGGCATTAGGTCAGAAAC  
GTAGTAGTTGGTTCATGACTTGGGACGG(SEQIDN°8)TTATAACTATGAGGAT  
15 GCCGTTATCATGAGTGAACGTTTGGTTAAAGATGATGTGTACACGTCTATTC  
ATATTGAAGAATACGAATCAGAAGCGCGTGACACAAAACCTTGGACCTGAAG  
AAATCACACGTGATATTCCTAACGTATCTGAAAATGCACTGAAAACTTAGAT  
GATCGCGGTATCGTTTATGTAGGTGCGGAAGTTAAAGACGGCGACATCTTA  
GTGGGTAAAGTAACGCCAAAAGGTGTAACAGAATTAAGTGCAGAAGAACGT  
20 TTATTACATGCAATCTTTGGTGAAAAAGCACGTGAAGTACGTGATACATCAT  
TACGTGTACCTCACGGCGCGGGCGGTATTGTACTTGATGTTAAAGTGTTCA  
ATCGTGAAGAAGGCGATGATTCACCTTACCAGGTGTGAACCAACTCGTAC  
GTGTTTACATTGTTCAAAAACGTAAAATTCATGTAGGGGACAAAATGTGTGG  
TCGTCACGGTAACAAAGGTGTCATCTCTAAAATTGTTCTGAAGAAGACATG  
25 CCGTACTTACCAGACGGTCGTCCAATCGACATCATGTTGAACCCACTCGGT  
GTACCATCTCGTATGAACATCGGACAAGTTTTAGAGCTCCACTTAGGTATGG  
CAGCTAAAACTTAGGTATCCACGTTGCATCACCAGTATTCGATGGTGCGAA  
CGATGATGACGTATGGTCTACAATTGAAGAAGCAGGTATGGCACGTGATGG  
TAAACTGTCCTTTACGATGGACGTACAGGTGAACCATTCGACAACCGTATC  
30 TCTGTAGGTGTCATGTACATGCTGAACTTGACACATGGTTGATGACAAGC  
TTCACGCACGTTCTACAGGACCTTACTCACTTGTTACACAACAACCGCTTGG  
TGGTAAAGCACAGTTTGGTGGACAAAGATTTGGTGAGATGGAGGTATGGGC  
ACTTGAAGCATACGGTGACGCATACACATTACAAGAAATCCTCACATACAAA

TCAGATGACACAGTAGGTCGTGTGAAACTTACGAAGCTATCGTTAAAGGT  
 GAAAACATCTCAAGACCAAGTGTTCCCTGAATCATTCCGCGTATTGATGAAAG  
 AATTACAAAGTTTAGGTCTTGACGTTAAAGTGATGGACGAACAAGATAACGA  
 AATTGAAATGCGTGACTTAGACGATGATGATATTCCAGATCGCAAAGTCAAC  
 5 ATTCAACCATCAACTGTTCCCTGAATCACAAAAAGAATTTAACGAATAATGATG  
 AATTGTAGATAAGATTAAACGGAATAGAAACACTTGGTTAAGCTTGAGTTTG  
 TGTTCAAATGTGACAGTTGAAATACAACAGATGTCATGTACGATTAATCTATT  
 CGGAAATGTGATCGGAATCCAACGAGAGGGCTTGGGTTTCGATGCATATCC  
 GATACTGCAACATTTTAAAGATAAATTGTAAATCAATCAACTAGCACAGTTAA  
 10 TTTAACTAAAGGAGGTAGGCTCCTTGATTGATGTAAATAAATTCCATTACAT  
 GAAAATAGGACTCGCTTCACCTGAAAAAATTCGTTCTTGGTCATATGGTGAG  
 GTCAAAAAGCCAGAAACAATTAATACTACCGTACGTTAAAACCAGAAAAAGATG  
 GTAA – 3'

Cette séquence mesure 3.852 paires de bases et possède un contenu en  
 15 cytosine plus guanosine de 39,2%, elle est déposée dans GenBank sous le  
 numéro GenBank accession AF325869.

Exemple 2 : Séquençage partiel du gène *rpoB* de 26 espèces du genre  
*Staphylococcus*.

20

L'alignement de la séquence *rpoB* déterminée chez les bactéries des  
 espèces *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lugdunensis* (GenBank  
 accession AF325870), *Staphylococcus intermedius* (GenBank accession  
 AF325869), *Staphylococcus saccharolyticus* (GenBank accession AF325871) et  
 25 *Staphylococcus caprae* (GenBank accession AF325868) a permis de déterminer  
 les séquences consensus des oligonucléotides suivants positionnés  
 respectivement en position 2491-2511 et 3554-3573 du gène *rpoB* chez  
*Staphylococcus aureus* :

- SEQ ID n°7 : 5'- AACCAATTCCGTATNGGTTT - 3' (où N  
 30 représente l'inosine)

- SEQ ID n°8 : 5'- CCGTCCCAAGTCATGAAAC - 3'

déterminant théoriquement l'amplification d'un fragment de 1.063 paires de  
 bases chez toute espèce du genre *Staphylococcus*.

SEQ.ID. n°8 est utilisée à titre d'amorce 3' et représente donc la séquence inverse complémentaire du brin direct représenté dans les séquences SEQ.ID. n° 3 à 6 en position 3554-3573 chez *Staphylococcus aureus*.

Les inventeurs ont déterminé la position de ces deux amorces SEQ.ID. n° 7 et SEQ.ID. n° 8, de façon à respecter les critères suivants :

- 1- séquence encadrée par ces deux amorces spécifiques de l'espèce de la bactérie. Cette condition est vérifiée après alignement des fragments de 1063 pb avec l'ensemble des séquences des gènes bactériens *rpoB* disponibles dans les banques de données informatiques.
- 2- recherche d'une région d'identification la plus courte possible afin d'augmenter le plus possible la sensibilité de la détection moléculaire
- 3- recherche d'une région proche de celle préalablement travaillée par les inventeurs dans le monde des entérobactéries [Mollet C. (1997) Mol. Microbiol., 26 :1005-11] afin de tendre vers une zone de travail commune à ces deux genre et famille bactériens.
- 4- la longueur des amorces de 18 à 22 pb,
- 5- séquence des amorces présentant une température de fusion voisine,
- 6- séquence des amorces ne permettant pas d'auto-hybridation ni de complémentarité.

L'analyse in silico laissait prévoir que ces deux oligonucléotides SEQ ID n°7 et SEQ ID n°8 devaient permettre l'amplification par procédé PCR un fragment de 1.063 paires de bases du gène *rpoB* chez toutes les espèces du genre *Staphylococcus*. En réalité, l'amorce de la séquence SEQ.ID. n° 8 n'accrochait par sur une espèce rare et pour des raisons indéterminées. En effet, les expériences réalisées au laboratoire ont montré que l'espèce du genre : *Staphylococcus schleiferi* n'était pas amplifié par cette paires d'amorces oligonucléotidiques, montrant le caractère aléatoire des prédictions réalisées sur les amorces. Les inventeurs ont donc par tâtonnement déterminé un nouvel oligonucléotide de séquence SEQ ID n°10 positionné en position 3241-3261 dans *Staphylococcus aureus*, qui combiné avec l'oligonucléotide SEQ ID n°7 dans une réaction d'amplification PCR, a effectivement permis d'obtenir un amplicon du gène *rpoB* d'une taille de 771 paires de bases (taille pour l'espèce



de référence *Staphylococcus aureus*) chez les 29 espèces du genre *Staphylococcus* testées par les inventeurs.

SEQ ID n°10 = 5'- GCIACITGITCCATACCTGT - 3'

SEQ.ID. n° 10 est utilisée à titre d'amorce 3'. C'est pourquoi elle  
5 correspond à la séquence inverse complémentaire des séquences du brin direct représenté sur les séquences SEQ.ID. n°3 à 6.

Ce produit d'amplification est ensuite séquencé par incorporation de deux amorces de séquençage SEQ ID n°9 (localisée en position 2643-2660 du gène *rpoB* dans les bactéries de l'espèce *Staphylococcus aureus*) et SEQ ID n°10 :

10 SEQ ID n° 9 = 5'- CAA TTC ATG GAC CAA GC - 3',

Cette dernière amorce a été déterminée pour respecter les contraintes d'une amorce de séquençage, c'est à dire d'une taille supérieure à 15 mères, ne s'hybridant pas avec la deuxième amorce utilisée pour le séquençage, et encadrant une zone d'en général environ 500 paires de bases dont la séquence  
15 est spécifique de chaque espèce dans le genre *Staphylococcus*.

En utilisant ce second jeu d'oligonucléotides de séquences SEQ ID n°9 / SEQ ID n°10, les inventeurs ont donc finalement pu déterminer la séquence partielle du gène *rpoB* chez 29 espèces du genre *Staphylococcus* présentées ci-après (SEQ ID n° 11 à SEQ ID n°39).

20 Le fragment du gène *rpoB* a été amplifié par la technique PCR utilisant 35 cycles d'amplification comportant chacun une phase de dénaturation de 94°C pendant 10 secondes, une phase d'hybridation des amorces SEQ ID n° 7 et 8 ou SEQ ID n°7 et 10 à 52°C pendant 20 secondes et une phase d'élongation à 72°C pendant 60 secondes. Le produit d'amplification est visualisé après  
25 coloration par le bromure d'éthidium.

Les bactéries représentant ces 29 espèces du genre *Staphylococcus* sont les suivantes :

Espèce	Numéro d'accès GenBank	Reference
<i>Staphylococcus caprae</i>	AF325868 (SEQ.ID. n°39)	CIP 104000 <sup>1</sup>
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	AF325890 (SEQ.ID. n° 27)	CIP 103504 <sup>1</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	AF325894 (SEQ.ID. n°37)	CIP 103780 <sup>1</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	X64172 (SEQ.ID. n°36)	CIP 103428

<i>Staphylococcus epidermidis</i>	AF325872 (SEQ.ID. n°30)	CIP 81.55 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	AF325888 (SEQ.ID. n°26)	CIP 81.56 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus intermedius</i>	AF325869 (SEQ.ID. n°23)	CIP 81.60 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	AF325870 (SEQ.ID. n° 20)	CIP 103642 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	AF325871 (SEQ.ID. n°17)	CIP 103275 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	AF325886 (SEQ.ID. n°15)	CIP 103643 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus xylosus</i>	AF325883 (SEQ.ID. n°11)	CIP 81.66 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus capitis</i> subs. <i>capitis</i>	AF325885 (SEQ.ID. n°34)	ATCC 27840 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus arlettae</i>	AF325874 (SEQ.ID. n°38)	ATCC 43957 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus warneri</i>	AF325887 (SEQ.ID. n°12°)	ATCC 27836 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus hominis</i>	AF325875 (SEQ.ID. n°25)	ATCC 27844 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus simulans</i>	AF325877 (SEQ.ID. n°13)	ATCC 27848 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AF325873 (SEQ.ID. n°16)	ATCC 15305 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus equorum</i>	AF325882 (SEQ.ID. n°29)	ATCC 43958 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>Cohnii</i>	AF325893 (SEQ.ID. n°31)	ATCC 29974 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus auricularis</i>	AF325889 (SEQ.ID. n°35)	ATCC 33753 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus carnosus</i> subsp. <i>Carnosus</i>	AF325880 (SEQ.ID. n°33)	ATCC 51365 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus kloosii</i>	AF325891 (SEQ.ID. n°22)	ATCC 43959 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	AF325892 (SEQ.ID. n°32)	ATCC 43764 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus hyicus</i> subs. <i>hyicus</i>	AF325876 (SEQ.ID. n°24)	ATCC 11249 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus pulveris</i>	AF325879 (SEQ.ID. n°18)	CCUG 33938 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus muscae</i>	AF325884 (SEQ.ID. n°19)	CIP 1035641 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus lentus</i>	AF036973 (SEQ.ID. n°21)	ATCC 49574
<i>Staphylococcus felis</i>	AF325878 (SEQ.ID. n°28)	CIP 103366 <sup>T</sup>
<i>Staphylococcus sciuri</i>	AF325881 (SEQ.ID. n°14)	ATCC 29062 <sup>T</sup>

ATCC, collection American Tissue Culture Collection ; CIP : Collection de l'Institut Pasteur collection ; <sup>T</sup>, souche type.

Les fragments d'en général environ 500 paires de bases du gène *rpoB*  
5 des bactéries des espèces du genre *Staphylococcus* dont la séquence est spécifique de chaque espèce de ce genre et permettant donc l'identification moléculaire des bactéries des 29 espèces testées sont :

SEQ ID N°11 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus xylosus*, mesurant 518 paires de bases :

5'TTCAGGGTTCATCAATGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATCAA  
5 TGCACGGTTAGAGTCATCATTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTGCGCAGCA  
GAAACAACCTTGTTTTGGTGAAACGTCCATGTAATCCATTTTTTCTTTAGCCAT  
AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCATCATCTAAGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATTTAGAGTTGGCTTGTGCTACCACATAACTATCCTCTTC  
ATCAGCTGTAAAGTAATCGATTTGCTCAGTAATGCTGTTTGTTC AAGGTCTA  
10 CTTTACGATAAGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTCACACGTGCATAACTA  
GACAATGAGTTGATAAGTCCAATGTTTGGACCTTCAGGCGTTTCGATTGGAC  
ACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTA CTTCATTTGAGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAGAGCAGATAAACGACGTTTGT – 3'

15 SEQ ID N°12 : Séquence partielle du gène *rpoB* *Staphylococcus warneri* mesurant 507 paires de bases :

5'TTCAGGATTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACAAGCTGTAGCGGCT  
GAAACAACCTGCTTAGGTGAAACGTCCATGTAATCCATTTTTTCTTTAGCCAT  
20 TACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACTACTTCGTCATCTATGAAACGT  
CCGTTTTTCATCTAAACGTGAATTCGCTTGGGCAACAACATAACTATCTTCTTC  
GTCAGCAGTTAAATAATCAATTTGGTCTGTAATCGCATTAGTGTCTAAATCCA  
CTTTACGATATGGTGTTCATGAAACCAAATTCGTTTACACGTGCATAACTA  
GATAATGAGTTGATTAATCCAATGTTTGGACCTCTGGCGTTTCAATTGGAC  
25 ACATACGACCATAGTGAGAATAGTGTACGTCACGTACCTCCATTTGTGCACG  
TTCACGTGTTAAACCACCAGGTCCTAAAGCAGATAA – 3'

SEQ ID N°13 : Séquence partielle du gène *rpoB* *Staphylococcus simulans*, mesurant 518 paires de bases :

30 5'TTCAGGGTTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGGATACATGCTGTGCGCTGC  
AGATACAACCTGTTTAGGAGAAACGTCCATATAGTCCATTTTCTCTCTATCCA  
TAGTTGTGTTGTTACCACGGAAACGACAAACGATTTCTTCGTCTAAGAAACG

ACCTTCGTCATCTAAACGTGAGTTCGCTTGCGCAACAACATAGCTGTCTTCT  
TCGTCTGCAGTAAGGTAATCGATTTGATCTGTTACCGCATTTTTCTCATGGT  
CAACTTTACGATATGGTGTTCATGAAACCAAATTCATTAACACGCGCATAA  
CTTGATAATGAGTTGATTAAACCGATGTTCCGACCCTCTGGTGTCTCGATTG  
5 GACACATACGGCCATAGTGAGAGTAATGCACGTCACGTACTTCCATTTGTG  
CACGTTACGTGTTAAACCACCAGGTCCAAGTGCAGATAGACGACGTTTAT  
– 3'

10 SEQ ID N°14 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus sciuri*,  
mesurant 507 paires de bases :

5'TTCTGGGTTTCATTAAAGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATAAG  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTCTGCTGCA  
GAAACAACCTGTTTAGGAGATACATCCATGTAGTCCATGCGTTCTTTAGGTT  
TAGTAGTGTTGTCCCCACGGAAACGACAAAGAACTTCATCATCAACGAATTT  
15 ACCTGTTTCATCAAGTACAGAGTTTGCTTGTGCAACTACATAGCTGTCTTCTT  
CGTCAGCTGTAAAGTAGTCGATTCTGTCAGTAACTTGGTTTGTCTCGATGTT  
TACCTTACGATAAGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTAACCTTTGCATAAC  
TTGATAATGAGTTGATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCAGGCGTTTCAATTGG  
ACACATACGACCATAGTGAGAGTAGTGAAACGTCACGTACTTCCATACCAGC  
20 ACGCTCACGAGTTAAACCACCCGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°15 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus schleiferi*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'TTCTGGGTTTAAACAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATCAA  
25 TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAAAACGGAATACATGCTGTCTGCAGCT  
GAAACAACCTGTTTAGGCGATACGTCCATGTAGTCCATTTTTCTTTAGCCAT  
AGTTGTGTTGTTACCACGGAAACGACAAACGATTTTCGTCATCGATAAAACGT  
CCGTTTTTCATCAAGTCTTGAGTTCGCTTGGGCAACAACATAACTGTCTTCTT  
CATCAGCAGTAAGGTAATCAATACGGTCTGTAATTGTGTTTGTTC AAGGTC  
30 TACTTTTCTGTATGGAGTTTCAATGAAACCAAATTCATTACACGTGCATAAC  
TTGAAAGTGAGTTGATCAAACCAATGTTTGGACCCTCTGGTGTCTCGATTGG  
ACACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGACGTACGAACTTCCATTTGTGCA  
CGTTCACGTGTTAAACCACCAGGCCCTAAAGCTGATAAACGACGTTTGT- 3'

SEQ ID N°16: Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus saprophyticus*, mesurant 518 paires de bases.

5'TTCTGGATTCATCAATGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATCAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTCGCTGCA  
5 GAAACAACTTGTTTAGGTGAGACATCCATATAATCCATTTTTCTTTGGCCAT  
AACTGTATTATTACCACGGAAACGACAAACAACTTCGTCTGCTATGAAACGG  
CCATTTTCGTCTAATGTTGAGTTTGCTTGTGCTACAACATAGCTATCTTCTTC  
ATCAGCTGTAAATAGTCAATTTGATCCGTGATTGAATTCGTTTCAAGATCCA  
CTTTACGGTAAGGTGTTTCAATAAAGCCGAATTCATTTACACGCGCATAACT  
10 AGATAACGAGTTAATAAGTCCGATGTTTGGACCCTCTGGCGTTTCAATTGGA  
CACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGAAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCA  
CGTTCACGCGTTAAACCACCAGGTCCTAGAGCTGATAAACGACGTTTAT – 3'

SEQ ID N°17: Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus saccharolyticus*, mesurant 556 paires de bases :

5'AAACCCATTAGCTGAGTTGACTCATAAACGTCGTTTATCAGCTCTAGGACC  
TGGTGGTTTAACTCGTGAACGCGCTCAAATGGAAGTACGTGACGTGCATTA  
TTCTCACTACGGTCGTATGTGCCCTATTGAAACACCTGAGGGCCCAAACATT  
GGATTAATTAACCTCATTATCTAGTTATGCAAGAGTAAATGAATTTGGTTTTAT  
20 TGAAACACCTTATCGTAAAGTTGATTTAGATACTAATTCAATCACTGACCAAA  
TTGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTTGCACAAGCAAA  
CTCACGTCTTGATGAAAATGGGTGCTTCTTAGATGATGAAGTTGTTTGTCTGT  
TTTCGTGGCAATAACACAGTGATGGCTAAAGAAAAAATGGACTATATGGACG  
TATCACCTAAACAAGTAGTTTCAGCAGCTACTGCATGTATCCCATTCTTAGA  
25 AAACGATGACTCAAACCGAGCATTAAATGGGTGCAAACATGCAACGTCAAGC  
AGTACCATTAATGAACCCAGAAGCGCCATTTGTTGGA – 3'

SEQ ID N°18: Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus pulveris*, mesurant 508 paires de bases :

30 5'TTCAGGATTCATTAAAGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATAAG  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTCGCAGC  
AGAAACAACCTGTTTAGGTGATACATCCATGTAATCCATACGTTCTTTAGGTT  
TCGTAGTATTATCCCCACGGAAACGACAAAGTACTTCATCATCAACGAATTT

ACCTGTTTCATCAAGTACTGAGTTTGCTTGCGCTACAACATAGCTGTCTTCT  
TCGTCAGCTGTAAATAGTCAATTCTGTCAGTAACTTGGTTTGTTCGATATT  
AACCTTACGATAAGGCGTTTCAATAAAACCAAATTCATTAACCTCTCGCATAAC  
TTGATAAAGAGTTAATTAAACCGATGTTTGGTCCCTCAGGTGTTTCAATTGG  
5 ACACATACGACCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTAATCCATACCAGCA  
CGTTCACGAAGTTAAACCGCCGGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°19 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus muscae*,  
mesurant 518 paires de bases :

10 5'TTCAGGATTCAACAATGGCACCGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
GGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTGCGCAGC  
AGAAACAACCTTGCTTCGGCGATACGTCCATGTAGTCCATTTTCTCTTTTGCC  
ATTGTTGTGTTGTTACCACGGAAACGACATACAATCTCATCATCAATAAAGC  
GACCATTTTCATCTAAACGTGAGTTCGCTTGTGCAACCACATAACTATCTTCT  
15 TCATCAGCAGTTAAATAGTCGATTTGATCAGTGATTGTGTTGCTCTCGATAT  
CAACTTTACGATATGGTGTTCATGAAACCAAATTCATTAAACACGTGCATAA  
CTAGATAGTGAGTTGATCAAACCAATGTTGAGTCCCTCTGGTGTCTCAATCG  
GACACATACGACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGTG  
CACGTTACGTGTCAAACCACCAGGCCCTAATGCTGAAAGACGACGCTTAT  
20 – 3'

SEQ ID N°20 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus  
lugdunensis*, mesurant 556 paires de bases :

25 5'TAACCCATTAGCAGAATTAACACACAAACGTCGTTTATCTGCGTTAGGACC  
TGGTGGTTTAAACACGTGAACGTGCACAAATGGAAGTTCGTGACGTGCATTA  
TTCTCACTATGGCCGTATGTGTCCGATTGAAACACCAGAGGGTCCAAACATT  
GGTTTGATTAACCTCATTATCTAGTTATGCGCGTGTCAACGAGTTTGGCTTTAT  
TGAAACGCCTTATCGTAAAGTAGATATTGATACAAATGCAATCACAGATCAA  
ATTGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGACAGTTATGTCGTTGCACAAGCGA  
30 ACTCTCGCCTTGATGAAAATGGTCGTTTCTTAGATGATGAAGTAGTATGCCG  
TTTCCGCGGTAATAATACTGTTATGGCTAAAGAAAAAATGGACTACATGGAT  
GTATCTCCTAAACAAGTTGTTTCAGCTGCGACAGCATGTATTCCATTCTTAG

AGAACGATGACTCTAACCGTGCATTGATGGGTGCAAACATGCAACGTCAAG  
CAGTTCCGTTGATGAACCCTGAAGCGCCGTTTCGTAGGA– 3'

SEQ ID N°21 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus lentus*,  
mesurant 507 paires de bases :

5'TTCAGGGTTCATTAAAGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
GGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCAAGGAAAGGAATACATGCTGATGGTGC  
AGAAACAACCTTGTTTAGGAGATACATCCATGTAATCCATACGTTCTTTAGGTT  
TAGTAGTGTTGTCACCACGGAAACGACAAAGAACTTCATCGTCGACGAATCT  
10 ACCAGTTTCATCTAATACTGAGTTTGCTTGTGCAACAACATAACTATCTTCTT  
CATCAGCAGTTAGATAATCAATTCTGTCTGTTACTTGGTTAGTTTCGATATTA  
ACTTTACGATATGGTGTTTCAATAAAGCCAAACTCGTTAACTCTAGCATAACT  
TGAAAGTGAGTTGATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCTGGTGTCTCAATCGGA  
CACATACGACCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTACTTCCATACCAGCA  
15 CGTTCACGAGTTAAACCGCCGGGTCCAAGCGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°22 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus kloosii*,  
mesurant 505 paires de bases :

5'TTCACGGTTCATCAATGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
20 GGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTCGCAGC  
CGAAACAACCTTGTTTTGGTGATACGTCCATGTAGTCCATTTTTTCTTTGCCA  
TAACTGTGTTGTTACCACGGAAACGACAACTACTTCATCATCTAAGAAACG  
ACCATTTTCATCTAATTTAGAGTTAGCTTGCGCTACCACATAGCTATCTTCTT  
CATCAGCTGTTAAATAGTCAATTTGATCTGTGATTGAATTAGTTTCTAAATCA  
25 ACTTTACGGTATGGTGTTTCGATAAAGCCAAATTCATTAACACGTGCATAAC  
TTGATAATGAGTTGATAAGTCCAATGTTTGGACCCTCTGGCGTTTCGATTGG  
ACACATACGACCATAGTGAGAATAGTAACGTCACGCACTTCCATTTGAGCAC  
GTTTCACGAGTTAAACCACCAGGTCCAAGCCAGATAG – 3'

30 SEQ ID N°23 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus intermedius*, mesurant 556 paires de bases :

5'GAACCCACTTGCTGAGTTGACTCACAAACGTCGTCTATCAGCATTAGGAC  
CTGGTGGTTTAAACGCGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTGCGTGACGTACACT

ACTCTCACTATGGTCGTATGTGTCCAATCGAAACACCTGAGGGACCAAACAT  
TGGTTTGATCAACTCATTATCTAGTTATGCACGTGTGAACGAATTTGTTTTA  
TCGAAACACCATATCGTAAAGTTGATATTGAAACAAATACGATTACTGACCA  
AATCGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTGCGACAAGCG  
5 AACTCACGTCTTGATGAAAACGGTCGCTTTATTGATGATGAGATTGTATGTC  
GTTTCCGTGGTAACAACACAACGATGGCGAAAGAAAAAATGGACTACATGG  
ACGTATCGCCGAAACAAGTTGTATCAGCTGCGACAGCGTGTATCCCATTCTT  
AGAAAACGATGACTCTAACCGTGCGTTAATGGGTGCGAACATGCAGCGTCA  
AGCGGTACCGTTGTTAAACCCTGAATCTCCATTTGTAGGT – 3'

10

SEQ ID N°24 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus hyicus*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'CTCTGGGTTCAATAAAGGCACGGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTA  
ATGCACGGTTCGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGGATACATGCTGTGCGCCG  
15 CAGAAACAACCTTGTTTCGGTGATACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTAGCC  
ATTGTTGTATTGTTCCACGGAAACGACAAACGATTTTCGTGTCGATAAAGC  
GTCCATTTTCATCTAAACGTGAGTTCGCTTGGGCAACAACATAACTGTCTTC  
TTCATCCGCAGTTAAGTAATCAATTTGATCTGTTATTGTATTGTTTCAAGGT  
CCACTTTACGGTAAGGCGTTTCAATGAAACCAAATTCGTTAACACGCGCATA  
20 ACTTGAAAGTGAGTTGATTAATCCAATGTTTGGACCCTCTGGCGTTTCGATT  
GGACACATACGACCGTAGTGAGAGTAGTGAACGTACGCACTTCCATTTGG  
GCACGTTACGCGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCAGATAAACGACGTTTG  
G – 3'

25 SEQ ID N°25 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus hominis*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'TTCAGGATTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCAAGGAATGGAATACAAGCTGTCGCTGC  
TGATACTACTTGTTTAGGAGATACATCCATGTAGTCCATTTTTCTTTGCCA  
30 TAACAGTGTTGTTACCACGGAAACGACATACCACTTCATCATCTAGGAAACG  
ACCATTTTCATCTAAACGAGAATTGGCTTGTGCAACTACATAGCTATCTTCTT  
CATCAGCAGTTAAATAATCAATTTGATCAGTAATCGAATTGGTATCAATATCT  
ACTTTACGATATGGTGTTTCGATAAAACCAAATTCATTTACACGTGCATAACT



AGATAATGAGTTAATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCTGGTGTTCATTGGA  
CACATACGACCATAGTGAGAATAGTGTACGTCACGAACTTCCATTTGTGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAAAGCAGAAAGACGACGTTTAG – 3'

- 5 SEQ ID N°26 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus haemolyticus*, mesurant 507 paires de bases :

5'TTCTGTGTTTCATCAATGGTACTGCTGACGTTGCATGTTTGCACCCATTAAT  
GCACGGTTAGAGTCATCATTTTCAAGGAAAGGAATACATGCTGTTCGCAGCT  
GAAACTACTTGTTTAGGAGATACGTCCATGTAGTCCATTTTCTCTTTAGCCAT  
10 AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACATACGACTTCATCATCTAAGAAACGA  
CCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTCGCTTGGGCAACTACATAGCTATCTTCTT  
CATCAGCAGTTAAGTAGTCGATTTGATCTGTAATAGAGTTAGTGTCTAAGTC  
TACTTTACGATATGGTGTTCATGAAACCAAATTCATTCACACGTGCATAAC  
TTGATAATGAGTTAATCAAACCAATGTTTGGTCCCTCTGGAGTCTCGATCGG  
15 ACACATACGACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTAATCCATTTGAGCA  
CGTTCACGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCAGAAAG – 3'

SEQ ID N°27 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus gallinarum*, mesurant 507 paires de bases :

20 5'TTCAGGATTCATCAAAGGTACAGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATCAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTTCGCAGCA  
GATACAACTGTTTAGGTGATACATCCATGTAGTCCATTTTTCTTTTGCCAT  
TACAGTGTTGTTACCACGGAAACGACAAACGACTTCATCTTCTACGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATACAGAGTTTGCTTGTGCTACTACATAACTGTCTTCTTC  
25 ATCAGCTGTTAAGTAGTCAATTTGATCTGTAATAGATTGTGTTTCAATATCAA  
CTTTACGATATGGTGTTCATGAAACCAAATTCATTTACACGCGCATAACTT  
GATAATGAGTTGATAAGTCCGATGTTTGGACCCTCAGGTGTTTCGATTGGAC  
ACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTAATCCATTTGAGCAC  
GTTACAGAGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°28 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus felis*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'TTCGGGATTCATTAAAGGTACAGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
5 TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGGATACATGCCGTCGCAGC  
AGAAACGACTTGCTTAGGCGATACGTCCATGTAGTCCATTTTTCTTTGGCC  
ATCGTTGTATTGTTTCCGCGGAAACGACATACAATCTCGTCATCCAAGAAAC  
GGCCTTCTTCGTCTAATCGTGCGTTTGCTTGTGCAACAACATAACTATCTTC  
TTCATCAGCTGTAAGATAGTCAATTTGGTCTGTAATTTTATTTGTCTCAAGAT  
10 CGACTTTACGATATGGTGTTCGATAAATCCAAATTCGTTAACACGTGCATA  
ACTTGATAATGAGTTGATTAATCCGATGTTTCGGCCCCTCTGGCGTTTCAATA  
GGACACATGCGACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGCACTTCCATCTGT  
GCACGTTCTCTCGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCGGATAGACGACGTTTAT  
– 3'

15 SEQ ID N°29 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus equorum*,  
mesurant 507 paires de bases :

5'TTCAGGATTCATCAATGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATCAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTTCGCAGCA  
GAAACAACCTGTTTAGGTGAAACATCCATGTAGTCCATTTTTCTTTAGCCAT  
20 AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCGTCTTCTACGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATACAGAGTTTGCTTGAGCTACTACATAGCTGTCTTCTTC  
GTCAGCTGTTAAGTAGTCAATTTGGTCTGTGATTGAATGTGTTTCAAGATCT  
ACTTTACGGTAAGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTCACACGCGCATAAC  
TAGATAGTGAGTTGATAAGTCCGATATTCGGACCCTCTGGTGTTCGATTGG  
25 ACACATACGACCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCA  
CGTTCACGTGTTAAACCGCCGGGTCCTAATGCTGATAA – 3'

SEQ ID N°30 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus epidermidis*, mesurant 518 paires de bases :

30 5'TTCAGGATTCATTAAAGGCACCGCTTGACGTTGCATGTTTGTCTCCCATTA  
CGCACGGTTAGAGTCGTCATTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTTGCTGCT  
GAAACAACCTGTTTTGGTGATACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTAGCCAT  
AACAGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCATCATCTAAGAAACGA

CCATTTTCATCAAGTCTAGAATTAGCCTGTGCAACAACGTAGCTATCCTCTT  
CATCAGCTGTCAAATAATCTATTTGATCAGTGATTGAGTTTGTATCTAAATCC  
ACTTTACGATATGGCGTTTCAATAAAACCAAATTCATTCACTCTAGCATAACT  
TGACAATGAGTTTATTAAACCAATATTAGGACCCTCAGGTGTTTCAATTGGA  
5 CACATACGCCCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGAGCA  
CGTTCACGTGTTAATCCACCAGGCCCTAGAGCAGATAAACGACGTTTGT – 3'

SEQ ID N°31 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus cohnii*,  
mesurant 507 paires de bases :

10 5'TTCTGGATTCATCAATGGGACTGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTTGCTGCA  
GAAACAACCTGTTTAGGAGATACATCCATGTAATCCATTTTTCTTTGCCAT  
AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACTTCATCATCTAAGAAGCGA  
CCATTTTCATCTAACTTAGAATTTGCTTGTGCTACTACATAGCTATCTTCTTC  
15 GTCAGCTGTTAAATAATCAATTTGATCTGTGATACTATTCGTTTCAAGATCTA  
CTTTACGATATGGCGTTTCAATGAAACCAAATTCATTTACACGTGCATAACTT  
GATAATGAGTTAATCAAACCAATGTTTGGTCCCTCTGGTGTTTCGATTGGAC  
ACATACGACCGTAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGAGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

20

SEQ ID N°32 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus  
chromogenes*, mesurant 507 paires de bases :

5'CTCAGGATTTAACAAAGGCACCGCTTGACGTTGGATGTTGCGACCCATTA  
ACGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAACGGAATACATGCAGTTGCCG  
25 CAGAAACAACCTTGCTTCGGTGATACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTAGCC  
ATTGTTGTATTGTTCCACGGAAACGACAAACGATTTTCGTCGTCGATAAAGC  
GTCCATTTTCATCTAAACGTGAGTTCGCTTGGGCAACAACATAACTGTCTTC  
TTCGTCCGCAGTTAAATAATCAATTTGATCAGTAATTGCGTTTCGTTTCAAGGT  
CTACTTTACGATACGGCGTTTCAATAAAACCAAATTCATTAACACGCGCATA  
30 ACTTGAAAGTGAGTTGATTAATCCAATATTTGGACCCTCTGGTGTTTCGATT  
GGACACATACGACCGTAGTGAGAATAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGA  
GCACGTTACAGTGTTAAACCACCTGGTCCTAAAGCAGATAA – 3'

SEQ ID N°33 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus carnosus*,  
mesurant 1.025 paires de bases :

5'TTCTGGATTCATCAATGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
5 TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGGATACAAGCTGTGCGCAGC  
TGATACTACTTGTTTTGGTGATACGTCCATGTAGTCCATTTTGTCTCTGTCCA  
TCATTGTGTTGTTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCTTCGCTGATGAAGTG  
ACCTTCATCATCTAAACGAGAGTTCGCTTGGGCTACAACATAGCTGTCTTCT  
TCGTCAGCTGTTAGATAGTCGATTTGATCAGTTACAGTATTAGTTTCAAGGT  
10 CAACTTTACGGTATGGTGTTCATAAAAACCGAACTCGTTAACACGTGCATA  
ACTTGATAATGAGTTGATCAAACCAATGTTTGGACCCTCAGGAGTTTCGATT  
GGACACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTA CTTCATTTGA  
GCACGTTTCACGAGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCAGATAATTCTGGATTCA  
TCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAATGCACGGTTAGA  
15 GTCATCATTTTCTAAGAATGGAATACAAGCTGTGCTGCAGATACTACTTGT  
TTAGGAGATACATCCATGTAGTCCATTTTCTCTTTAGCCATAACTGTGTTATT  
ACCACGGAAACGACAAACAACCTTCGTCATCTAAGAAACGACCATTTTCGTCT  
AAACGAGAGTTCGCTTGGGCAACAACATAACTATCTTCTTCATCAGCAGTTA  
AGTAATCAATTTGGTCAGTGATAGAATTCGTATCTAAATCTACTTTACGATAA  
20 GGTGTTTCAATAAAAACCAAATTCATTTACTCGTGCATAACTTGATAATGAGTT  
GATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCAGGTGTTTCGATTGGACACATACGGCCA  
TAGTGAGAATAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGGGCACGTTACGCGTT  
AAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAGACGACGTTTAT – 3'

25 SEQ ID N°34 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus capitis*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'TTCAGTGTTTCATCAATGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTAGCTGCT  
GATACAACTTGTTTAGGTGATACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTTGCCAT  
30 AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTCGTCATCTAAGAAACGA  
CCATTTTCGTCTAAACGTGAGTTGGCTTGGGCAACTACATAGCTATCTTCTT  
CATCAGCAGTTAAGTAATCGATTTGATCTGTGATAGAGTTCGTATCTAAATCA  
ACTTTACGATACGGTGTCTCGATGAAACCAAATTCATTTACTCGCGCATAAC

TTGATAATGAGTTAATTAAACCAATATTTGGACCCTCTGGTGTTC AATTGGA  
CACATACGACCATAGTGTGAGTAATGAACGTCACGTA CTTCATTGAGCAC  
GTTACAGAGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAGACGACGTTT TG – 3'

- 5 SEQ ID N°35 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus auricularis*, mesurant 507 paires de bases :

5'TTCTGGGTTTCATTAAAGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATAAG  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTGCTGCA  
GAAACAAC TTGTTTAGGAGATACATCCATGTAGTCCATGCGTTCTTTAGGTT  
10 TAGTAGTGTTGTCCCCACGGAAACGACAAAGAACTTCATCATCAACGAATTT  
ACCTGTTTCATCAAGTACAGAGTTTGCTTGTGCAACTACATAGCTGTCTTCTT  
CGTCAGCTGTTAAGTAGTCGATTCTGTCAGTAACTTGGTTTGTCTCGATGTT  
TACCTTACGATAAGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTAAC TCTTGCATAAC  
TTGATAATGAGTTGATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCAGGCGTTTCAATTGG  
15 ACACATACGACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTA CTTCATACCAGC  
ACGCTCACGAGTTAAACCACCCGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°36 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus aureus*, mesurant 518 paires de bases :

20 5'TTCTGGATTTCATCAAAGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATCAA  
TGCACGGTTTGAGTCATCATTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTGCTGCT  
GAAACAAC TTGCTTCGGCGATACATCCATATAATCCATTTTTCTTTAGCCAT  
AACTGTGTTGTTACCACGGAAACGACATACAACTTCATCATCCATGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATTTAGAGTTTGCTTGTGCTACAACATAGCTATCTTCTTC  
25 GTCAGCTGTTAAATAGTCAATTTGATCAGTGATAGCATGTGTATCTAAATCAA  
CTTTACGATATGGTGTTTCAATAAAGCCGAATTCATTTACACGTGCATAACTT  
GATAATGAGTTAATCAATCCAATGTTTGGTCCCTCAGGTGTTTCAATTGGAC  
ACATACGGCCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTA CTTCATTTGAGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAGACGACGTTTAT – 3'

SEQ ID N°37 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus aureus anaerobius*, mesurant 507 paires de bases :

5'TTCTGGATTCATCAAAGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATCAA  
5 TGCACGGTTTGAGTCATCATTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTGCTGCT  
GAAACAACCTTGCTTCGGCGATACATCCATATAATCCATTTTTTCTTTAGCCAT  
AACTGTATTGTTACCACGGAAACGACATACAACCTTCATCATCCATGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATTTAGAGTTTGCTTGTGCTACAACATAGCTATCTTCTTC  
GTCAGCTGTTAAATAGTCAATTTGATCAGTGATAGCATGTGTATCTAAATCAA  
10 CTTTACGATATGGTGTTCATAAAGCCGAATTCATTTACACGTGCATAACTT  
GATAATGAGTTAATCAATCCAATGTTTGGTCCCTCAGGTGTTTCAATTGGAC  
ACATACGGCCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTA CTTCATTTGAGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCCGATAG – 3'

15 SEQ ID N°38 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus arlettae*, mesurant 518 paires de bases :

5'TTCACGGTTCATCAACGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCCGTTGCAGCT  
GAAACTACTTGCTTAGGTGATACGTCCATGTAGTCCATTTTTTCTTTAGCCAT  
20 AACTGTGTTATTACCGCGGAAACGACAAACAACCTTCGTCATCTAAAACTTA  
CCATTTTCATCTAAGTTAGAGTTGGCTTGTGCTACCACATAGCTGTCCTCTT  
CATCAGCAGTTAGGTAATCAATTTGATCTGTAATTGAGTTTGTTGCTAAATCT  
ACTTTACGGTACGGCGTTTCGATAAAGCCAAATTCATTTACACGTGCATAAC  
TTGATAGTGAGTTAATTAACCGATGTTTGGTCCCTCTGGTGTTTCGATAGG  
25 ACACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGACGTCACGTA CTTCATTTGAGCA  
CGTTCACGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAAACGACGTTTAT-3'

SEQ ID N°39 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus caprae*, mesurant 556 paires de bases :

30 5'TAACCCATTAGCTGAGTTGACTCATAAACGTCGTCTATCAGCATTAGGACC  
TGGTGGTTTAACGCGTGAAACGTGCCCAAATGGAAGTGCGTGACGTTCACTA  
TTCTCACTATGGCCGTATGTGTCCAATCGAAACACCTGAGGGACCAAACATT  
GGTTTAATCAACTCATTATCAAGTTATGCACGAGTAAATGAATTTGGTTTTAT

TGAAACACCTTATCGTAAAGTAGATTTAGATACGAATTCTATCACTGACCAAA  
 TTGATTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTTGCCCAAGCGAA  
 CTCTCGTTTAGACGAAAATGGTCGTTTCTTAGATGACGAAGTTGTTTGTCGT  
 TTCCGTGGTAATAACACAGTTATGGCTAAAGAGAAAATGGACTACATGGATG  
 5 TATCTCCTAAACAAGTAGTATCTGCAGCGACAGCTTGTATTCCATTCTTAGA  
 AAATGATGACTCTAACCGTGCAATTAATGGGTGCGAACATGCAACGTCAAGC  
 AGTACCATTGATGAATCCAGAAGCGCCATTTGTTGGT-3'

Exemple 3. Identification en aveugle d'une collection de 20 souches  
 10 bactériennes comprenant 10 souches de bactéries appartenant au genre  
*Staphylococcus*.

Une collection de vingt souches appartenant aux espèces bactériennes  
 suivantes: *Staphylococcus aureus* (souche sensible à la rifampicine),  
*Staphylococcus aureus* (souche résistante à la rifampicine), *Staphylococcus*  
 15 *epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*,  
*Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus*  
*schleiferi*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus gallinarum*, *Escherichia*  
*coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus*  
*faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium amycolatum*, *Gemella*  
 20 *morbilorum*, *Acinetobacter anitratus*, *Micrococcus luteus* et *Propionibacterium*  
*acnes* a été codée de façon à réaliser une identification moléculaire en aveugle  
 (l'expérimentateur ne connaissant pas a priori l'identité des souches) des  
 souches selon le procédé décrit dans la présente demande de brevet.  
 L'extraction des acides nucléiques ainsi que l'amplification du fragment de 751  
 25 paires de bases du gène *rpoB* ont été réalisées comme décrits dans l'exemple  
 n°2 en incorporant les amorces SEQ ID N°7 (comme amorce 5') et SEQ ID N°10  
 (comme amorce 3') dans une amplification PCR (Fig. 1). Le séquençage de ces  
 10 amplifiats a été réalisé en incorporant dans la réaction de séquençage les  
 amorces SEQ ID N°9 (amorce 5') et SEQ ID N°10 (amorce 3') comme décrit  
 30 dans l'exemple n°2 et la comparaison des séquences obtenues avec les  
 séquences de la banque de données des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 a  
 permis d'identifier les dix souches amplifiées comme étant : *Staphylococcus*  
*aureus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus*

*haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus intermedius*,  
*Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus*  
*lugdunensis* et *Staphylococcus gallinarum*. Le décodage de ces 20 souches a  
montré 100% de concordance entre l'identification moléculaire selon le procédé  
5 faisant l'objet de la présente invention et l'identification établie antérieurement  
par les méthodes phénotypiques standard. Ce résultat illustre la spécificité des  
jeux d'amorces SEQ ID N°7/SEQ ID N°10 et SEQ ID N°9/SEQ ID N°10 utilisés  
pour ce travail et le fait que le niveau de sensibilité des souches de  
*Staphylococcus aureus* à la rifampicine n'interfère pas avec l'identification de ces  
10 souches.

Les autres bactéries choisies pour ce qu'elles sont fréquemment isolées  
dans les prélèvements cliniques humains ou animaux susceptibles de contenir  
également des bactéries du genre *Staphylococcus*, n'ont pas été amplifiées,  
démontrant ainsi la spécificité des amorces utilisées pour le genre  
15 *Staphylococcus* dans les conditions d'utilisation pour la détection des bactéries  
du genre *Staphylococcus* selon l'invention. par rapport aux bactéries d'un autre  
genre.

Sur la figure 1 sont représentés les produits d'amplification PCR obtenus  
à partir de quinze souches bactériennes codées, comportant 10 souches  
20 appartenant au genre *Staphylococcus* (colonnes 2 à 5, 8, 9, 11 à 13 et 16) et 5  
souches bactériennes de genres bactériens autres que *Staphylococcus*  
(colonnes 6, 7, 10, 14 et 15). Les colonnes 1 et 17 représentent le marqueur de  
poids moléculaire. Des colonnes correspondant aux témoins négatifs  
d'amplification (eau stérile) et à d'autres souches autres que *Staphylococcus* ne  
25 sont pas représentées. Les produits d'amplification sont obtenus après  
incorporation des amorces SEQ ID N°7 et SEQ ID N°10 selon l'invention et sont  
visualisés par coloration au bromure d'éthidium après électrophorèse sur un gel  
d'agarose.



## REVENDEICATIONS

1. Gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Staphylococcus*, caractérisé en ce qu'il comprend une séquence telle que décrite dans les séquences SEQ.ID. n° 11 à 29 et 31 à 39, les séquences inverses et  
5 séquences complémentaires.
2. Gène *rpoB* d'une des bactéries *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae*, et *Staphylococcus intermedius* selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il correspond à l'une des séquences telles que décrites dans les séquences SEQ.ID. n° 3 à 6.
- 10 3. Fragment d'un gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Staphylococcus*, caractérisé en ce qu'il consiste dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 et les séquences inverses et séquences complémentaires.
4. Oligonucléotide caractérisé en ce qu'il comprend une séquence d'au moins 12, de préférence de 12 à 35, motifs nucléotidiques consécutifs  
15 incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, dans lesquelles N représente un nucléotide choisi parmi l'inosine et un mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C ou G, et les oligonucléotides de séquences inverses et séquences complémentaires.
5. Oligonucléotides selon la revendication 4, caractérisé en ce qu'ils  
20 consistent dans les séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, et les séquences inverses et séquences complémentaires dans lesquelles N représente l'inosine.
6. Procédé de détection par identification moléculaire d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Staphylococcus* caractérisé en ce qu'on utilise :
- le gène *rpoB* de ladite bactérie, ou un fragment dudit gène selon l'une  
25 des revendications 1 à 3, ou
  - un oligonucléotide selon l'une des revendications 4 ou 5.
7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'on utilise :
- un fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie selon la revendication 3, ou
  - un oligonucléotide selon la revendication 5.
- 30 8. Procédé selon l'une des revendications 6 ou 7, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes dans lesquelles :
- 1- on met en contact au moins une sonde de genre comprenant un dit oligonucléotide selon la revendication 4 ou 5, avec un échantillon contenant ou

susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, et

2- on détermine la formation ou l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde de genre et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

9. Procédé selon l'une des revendications 7 ou 8, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact les amorces d'amplification comprenant desdits oligonucléotides selon la revendication 4 ou 5 avec un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, et avec :

- comme amorce 5', un oligonucléotide choisi parmi les oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 ou 9 ou les séquences complémentaires, de préférence lesdites séquences complètes, et

- comme amorce 3' un oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 10 ou 8, ou respectivement une séquence complémentaire, de préférence lesdites séquences complètes.

2- on réalise une amplification d'acides nucléiques par réaction de polymérisation enzymatique et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si un produit d'amplification est apparu.

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'on utilise :

-- comme amorce 5' : l'une des séquences SEQ.ID. N° 7 ou 9 ou une séquence complémentaire, et

- comme amorce 3' : la séquence SEQ.ID. N° 10 ou respectivement une séquence complémentaire.

11. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du groupe *Staphylococcus* choisie parmi les espèces :

*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus*

*saprophyticus*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus pulveris*,  
*Staphylococcus muscae*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus lentis*,  
*Staphylococcus kloosii*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*,  
*Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus*  
5 *gallinarum*, *Staphylococcus felis*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus*  
*epidermidis*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus chromogenes*,  
*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus auricularis*,  
*Staphylococcus aureus subs. aureus*, *Staphylococcus aureus subs. anaerobius*,  
*Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus caprae*,

10 procédé dans lequel :

1- on met en contact un échantillon contenant ou susceptible de contenir  
des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie, avec au moins une sonde  
d'espèce consistant dans un fragment de gène selon la revendication 1 ou 3, de  
préférence un oligonucléotide consistant respectivement dans l'une desdites  
15 séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, les séquences inverses et séquences  
complémentaires, et

2- on détermine la formation ou l'absence d'un complexe d'hybridation  
entre ladite sonde et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi  
la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe  
20 d'hybridation.

12. Procédé selon l'une des revendications 6 ou 7 , caractérisé en ce  
qu'on cherche à détecter une espèce donnée d'une bactérie du genre  
*Staphylococcus* choisie parmi les espèces : *Staphylococcus xylosus*,  
*Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus sciuri*,  
25 *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus*  
*saccharolyticus*, *Staphylococcus pulveris*, *Staphylococcus muscae*,  
*Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus lentis*, *Staphylococcus kloosii*,  
*Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus hominis*,  
*Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus felis*,  
30 *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus cohnii*,  
*Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus*  
*capitis*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus aureus subs. aureus*,  
*Staphylococcus aureus subs. anaerobius*, *Staphylococcus arlettae*,

*Staphylococcus caprae*, procédé dans lequel, dans un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, on effectue les étapes dans lesquelles :

a) on réalise une réaction de séquençage d'un fragment du gène *rpoB* amplifié d'une dite bactérie donnée à l'aide des amorces nucléotidiques consistant dans des oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans les séquences SEQ.ID. n°7 ou 9 comme amorce 5' et SEQ.ID.n° 10 comme amorce 3', de préférence des oligonucléotides consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 ou 9 et 10, et lesdites séquences complémentaires, et

b) on détermine la présence ou l'absence de l'espèce donnée de ladite bactérie en comparant la séquence dudit fragment obtenu avec la séquence du gène complet *rpoB* de ladite bactérie ou la séquence d'un fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie comprenant respectivement lesdites séquences n° 11 à 39 et séquences complémentaires, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si la séquence du fragment obtenue est identique à la séquence connue du gène ou du fragment de gène *rpoB* de ladite bactérie.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que :

- à l'étape a) on réalise les étapes comprenant :

1- une première amplification de l'acide nucléique dudit échantillon avec un couple d'amorces 5' et 3' choisi parmi des oligonucléotides comprenant respectivement les séquences SEQ.ID. n° 7 et respectivement SEQ.ID. n° 10, de préférence consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 et 10, ou les séquences complémentaires, et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et

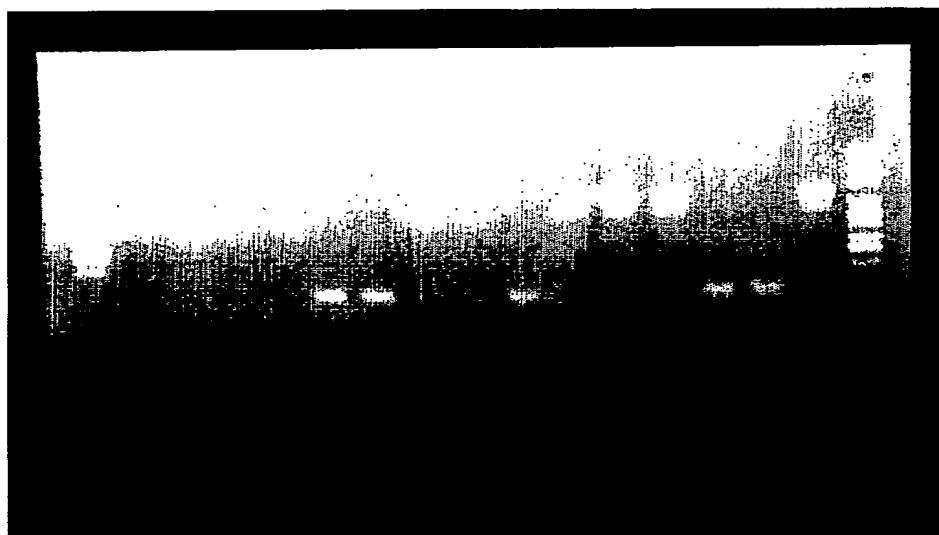
2- une réaction de séquençage des amplifiats déterminés à l'étape 1 avec les amorces 5' et 3' consistant dans des oligonucléotides comprenant les séquences SEQ.ID. n° 9 et respectivement SEQ.ID. n° 10, ou leurs séquences complémentaires, de préférence des oligonucléotides consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 9 et 10 ou leurs séquences complémentaires, et

- à l'étape b), on compare les séquences obtenues avec respectivement l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 ou leurs séquences complémentaires

14. Trousse de diagnostic utile dans un procédé selon l'une des revendications 6 à 13, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un dit oligonucléotide ou fragment de gène selon l'une des revendications 3 à 5.

1/1

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17



## LISTE DE SEQUENCES

<110> Université de la Méditerranée

<120> Identification moléculaire des bactéries du genre  
Staphylococcus

<130> H52437 cas 5

<140>

<141>

<160> 85

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 25

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce  
consensus

<400> 1

aaacttaata gaaattcaaa ctaaa

25

<210> 2

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce  
consensus

<400> 2

atctggtaaa gcattaccaa

20

<210> 3

<211> 3791

<212> ADN

<213> Staphylococcus saccharolyticus

<400> 3

atgaaactta atagaaattc aaactaaatc ttatgattgg ttccttaaag aagggttatt 60  
agaaatgttt agagacattt caccaattga agatttcaca ggcaacctat ctttagaatt 120  
tgtagattat agattaggtg aaccaaatta tgatttagaa gaatctaaaa atcgtgacgc 180  
tacttatgct gcacctcttc gtgtcaaatg acgtctcatt attaaagaaa caggcgaagt 240  
aaaagaacaa gaagtcttca tgggtgattt cccattaatg acagacacag gtacatttgt 300  
tatcaatggt gctgagcgtg ttatcgtgtc tcaattagta cgttcaccat ctgtttattt 360  
caacgaaaaa attgataaaa acggtcgtga aaattatgat gcgactatta ttcctaaccg 420  
tggtgcttgg ttagaatatg aaacagatgc taaagatgtc gtttatgttc gtatcgatag 480  
aacacgtaaa ttaccattaa ctgtattgtt acgtgcgcta ggtttctcaa ctgatcaaga 540  
aatcgttgat ttaataggag acagtgaata ttacgtaat acattagaaa aagatggaac 600  
tgaaaataca gaacaagctt tattagaaat ttatgaacgt ttgcgtcctg gcgaaccacc 660  
aacagtagaa aatgctaaaa gcttattata ttcacgtttc ttcgatccta aacgctatga 720  
tttagcaagt gtaggtcgtt ataaagctaa caaaaagtta catttaaaac accgtttatt 780

```

taatcaaaaa ctagcagaac caattgttaa tagtgaaca ggtgagattg tagcggaaga 840
aggtactgta cttgatcgtc gtaaactaga tgaaatcatg gacgtattgg agacaaacgc 900
taatagcgaa gtctttgaac ttgaaggtag tgtcattgat gaaccagtag aaattcaatc 960
aattaaagta tatgttccta atgatgaaga aggtcgaact actactgtta ttggtaatgc 1020
attaccagac tcagaagtta aatgtattac tccggctgat attatcgctt caatgagtta 1080
cttctttaac ttattgaatg gaattggtta tacagatgat attgaccact taggtaatcg 1140
tcgtttacgt tcagttgggtg aattactaca aaaccaattc cgtatcgggtt tgtctagaat 1200
ggaacgtggt gtacgtgaga gaatgtcaat tcaagacact gattctatca ctccacaaca 1260
attaattaat attcgtccag tcattgcata tattaagaa ttttttggtt gttctcaatt 1320
atctcaattc atggaccaag caaacccatt agctgagttg actcataaac gtcgtttatc 1380
agctcttaga cctggtgggt taactcgtga acgcgctcaa atggaagtac gtgacgtgca 1440
ttattctcac tacggtcgta tgtgccctat tgaaacacct gagggcccaa acattggatt 1500
aattaactca ttatctagtt atgcaagagt aaatgaattt ggttttattg aaacacctta 1560
tcgtaaagtt gatttagata ctaattcaat cactgaccaa attgactact taactgctga 1620
tgaagaagat agttatgttg ttgcacaagc aaactcacgt cttgatgaaa atgggtgctt 1680
cttagatgat gaagttgttt gtcgttttcg tggcaataac acagtgatgg ctaaagaaaa 1740
aatggactat atggacgtat cacctaaaca agtagtttca gcagctactg catgtatccc 1800
attcttagaa aacgtagact caaacccagc attaatgggt gcaaaccatgc aacgtcaagc 1860
agtaccatta atgaaccagc aagcgccatt tgttggaaac ggtatggaac atgtagcagc 1920
gcgtgactca ggtgcagcaa ttactgctaa gcatagagga cgtgttgaaac atgttgagtc 1980
taatgaagtt ttagttcgtc gtttagtaga agaaaatggg attgaacatg aagggtgaatt 2040
agatcgctat ccattagcaa aattcaaacg ttcaaactct ggtacatggt ataaccaacg 2100
cccaattggt tctgttggag acgttgttga atataacgaa attttagcag acggtccttc 2160
aatggaacta ggtgaaatgg ctttaggtcg taacgtagtt gtaggtttca tgacttggga 2220
cggttataac tatgaggatg ccgttatcat gagcgaacgt ttagttaaag atgatgtcta 2280
tacatctatt catatcgaag aatacgaatc agaagcacgt gacactaaat taggacctga 2340
agaaattact cgtgatattc ctaatgtgtc tgaaagtgcg cttaaaaact tagacgatcg 2400
tggatcgtt tatgttgggt ccgaagttaa agatggtgac atcttagtag gcaaagtaac 2460
gcctaaaggt gtaacggaac taacagcaga agaagatta ttacatgcta ttttcggtga 2520
aaaggctcgt gaagttcgtg atacttcatt acgtgtacca catggtgcag ggggcctcgt 2580
attagatgta aaagtcttca accgtgaaga gggcgatgac actttatctc ctggtgtaaa 2640
tcaattagta cgtgtttata tcgttcaaaa acgtaaaatt catgtagggg ataaaatgtg 2700
cggtcgcat ggtaataaag gtgttatctt taaaattggt cctgaagaag atatgccata 2760
cttacctgat ggtcgaccaa tcgacatcat gttaaatcca cttggtgtac cttcacgtat 2820
gaacattgga caagtgttag aattacactt aggtatggct gctaaaaact taggcatcca 2880
cattgcatca ccagtatttg atggtgctaa tgatgatgat gtttgggtcta caatcgaaga 2940
ggccggcatg gcacgtgatg gtaagactgt attatatgat gggcgtagcg gtgaaccgtt 3000
tgataaccgt atttctgtag gtgtaatgta catgcttaaa cttgctcaca tggttgatga 3060
caaattgcat gcacgttcaa caggaccata ctactcgtt acacaacaac cactcgggtg 3120
taaagcaciaa tttggtggac aacgtttcgg tgagatggag gtatgggcac ttgaagcata 3180
tggtgtcgtt tatactttac aagaaatctt aacttataaa tctgacgata cagtaggacg 3240
tgtaaaaact tacgaatcta tcgttaaagg tgaaaaacatc tctagaccaa gtgttcctga 3300
gtcattccga gtactgatga aagaattaca aagtttagga ttagatgtta aagtaatgga 3360
tgagcatgat aatgaaattg aaatggcaga tgttgatgat gaagatgcaa cggaacgcaa 3420
agtagattta caacaaaaaa atgctccgga atcacaaaaa gaaacaactg attaataagc 3480
acttaagata aatgaatact taaaggggtat gaaatgatta tcatttcaac ttcttttaggt 3540
attcgatttc aatgaaagta atcaatcaaa tagcacagct aatctaaatt gaaggaggtg 3600
ggctccttga ttgatgtaaa taatttccat tatatgaaaa taggattagc ttcacctgaa 3660
aagattcgtt cttggtcata tgggtgaagtt aagaaaacctg aaacaataaa ctatcgtact 3720
ttaaagccag aaaaagatgg tcttttctgt gaaagaattt tcggacctac aaaagactgg 3780
gaaattttta a 3791

```

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 3855

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus lugdunensis*

&lt;400&gt; 4

```

atgtcttatg attggttcct aaaagaaggt ttactagaaa tgttcctgta tatctcacca 60
attgaagatt tcacaggtaa cctatcatta gaggttgtag attacagatt aggtgaacca 120

```



aagtatgatt	tagaagaatc	gaaaaatcgt	gacgctactt	atgctgcacc	tcttcgtggt	180
aaagtgcgtc	tcgttataaa	agaaacaggt	gaagttaaag	agcaagaagt	atztatggga	240
gacttcccat	taatgacaga	tacaggtacg	tttggtatta	atggtgcaga	gcgtgttatt	300
gtatcgcaat	tagtacgttc	accatccgtt	tactttaatg	aaaaaattga	caaaaacgga	360
cgagaaaatt	atgatgctac	aatcattcct	aaccgtgggtg	cctgggttaga	atacgaaca	420
gatgctaaag	atgttgtcta	tggtcgtatt	gatagaactc	gtaaattgcc	attaactgtc	480
ttattacgcg	cattaggcctt	ttcaactgat	caagaaattg	ttgagttggt	aggcgataac	540
gaatacttgc	gtaatacatt	agaaaaagac	ggaacagaaa	acactgaaca	agcgttatta	600
gaaatztatg	aacgtttacg	tcctgggtgaa	ccaccaacag	ttgaaaatgc	aaaaagttta	660
ttatatcttc	gcttcttcga	tccgaaacgc	tatgatttag	caagcgttgg	acgttataaa	720
gcgaacaaaa	aattgcatct	aaaacaccgt	ttattttaatc	aaaaattagc	agagcctatc	780
gtaaacagcg	aaacaggtga	aattgttgct	gaagaaggta	ctgtattaga	tcgtcgcaaa	840
ttagacgaaa	ttatggacgt	tcttgaaaca	aatgcgaata	gtgaagtatt	cgaattagaa	900
ggaacagtaa	tagacgaacc	gggtgaaatt	caatcaatca	aagtctatgt	accaaattgat	960
gaagaagggt	gtacaacaac	gataattggt	aatgctttac	cagattcaga	agtgaattgt	1020
atcacacctg	cagatattat	ttcttctatg	agttacttct	tcaacttatt	agctggcatt	1080
gggtacacgg	atgatattcga	tcatttaggt	aaccgtcggt	tacgttcagt	tggtgagtta	1140
ttgcaaaaaa	aattccgtat	tggtttatca	agaatggaaac	gtgttggtgcg	tgaaagaatg	1200
tcaattcaag	ataccgaatc	tatcacacca	caacaattaa	ttaatattag	accagttatt	1260
gcatcaatta	agaattctct	tggtagttct	caattatcac	aattcatgga	ccaagctaac	1320
ccatttagcag	aattaacaca	caaacgtcgt	ttatctgcgt	taggacctgg	tggtttaaca	1380
cgtgaacgtg	cacaaatgga	agttcgtgac	gtgcattatt	ctcactatgg	ccgtatgtgt	1440
ccgattgaaa	caccagaggg	tccaaacatt	ggtttgatta	actcattatc	tagttatgct	1500
cgtgtcaacg	agtttggcct	tattgaaacg	ccttatcgta	aagtagatat	tgatacaaat	1560
gcaatcacag	atcaaattga	ctacttaact	gctgatgaag	aagacagtta	tgctcgttgca	1620
caagcgaact	ctcgccttga	tgaaaatggg	cgtttcttag	atgatgaagt	agtatgccgt	1680
ttccgcggta	ataatactgt	tatggctaaa	gaaaaaatgg	actacatgga	tgtatctcct	1740
aaacaagttg	tttcagctgc	gacagcatgt	attccattct	tagagaacga	tgactctaac	1800
cgtgcattga	tggttgcaaa	catgcaacgt	caagcagttc	cgttgatgaa	ccctgaagcg	1860
ccgttcgtag	gaacaggtat	ggagcatgtt	gctgtcgtg	actctggtgc	tgcgattact	1920
gcaaaataca	gaggtcgtgt	agaacacgtt	gaatctaata	aaatcctagt	gcgtcgatta	1980
attgaagaaa	atggaaaaga	atatgaaggc	gaacttgatc	gctatccatt	agcgaagttt	2040
aaacgctcta	actctggtac	atgttataac	caacgtccaa	ttgtttctat	tgggcagcgt	2100
gtagaataca	atgaaattct	agctgacggg	ccatcaatgg	agcttggtga	aatggcatta	2160
ggccgcaacg	ttgtagtgtg	tttcagtact	tgggacggct	ataactatga	agatgctgtc	2220
atcatgagtg	aacgtttagt	caaagatgac	gtttacacat	ctattcatat	tgaagaatat	2280
gaatcagaag	cacgtgatac	gaaattagga	cctgaggaaa	tcacacgtga	tattcctaac	2340
gtctctgaaa	gtgcacttaa	aaacttagac	gatcgcggta	ttgtttatgt	agggtgcagaa	2400
gttaagatg	gcgatatttt	agtaggtaaa	gtaacgccta	aagggtgcac	agagctaaca	2460
gctgaagaac	gtctattaca	tgcaatcttt	gggtgaaaaag	cacgtgaagt	gcgtgacact	2520
tcattgogtg	taccacatgg	tgctggcggt	attgtgctag	atgttaaagt	cttcaaccgt	2580
gaagaaggag	atgacacact	ttctccaggt	gttaaccaat	tagtacgcgt	atatattgtg	2640
cagaaacgta	aaatacacgt	tggggacaaa	atgtgtgggtc	gtcatggtaa	caaagggtgc	2700
atttctaaga	ttgttccaga	agaggacatg	ccttatttac	cagatggacg	tccaattgat	2760
attatgttaa	accacttggg	tgtgccatca	cgtatgaaca	ttggacaagt	tctagagttg	2820
catttaggta	tggtctgtaa	aaacttaggt	attcatgttg	cgtcaccagt	atttgatggt	2880
gcgaacgatg	aagatgtatg	gtcaacaatt	gaagaagctg	gtatggcacg	tgacggtaaa	2940
accgtattat	atgatggccg	tacaggtgag	ccattcgaca	accgtatctc	agttggagtt	3000
atgtacatgc	ttaaacttgc	acatatgggt	gatgacaaat	tacatgctcg	ttcaacaggt	3060
ccatactcat	tagttacaca	acaaccactt	gggtggtaaag	cacaatttgg	tggaacaacgt	3120
ttcgggtgaga	tggaagtatg	ggcacttgaa	gcttatgggtg	ctgcctatac	attgcaagaa	3180
atccttactt	ataaatctga	tgatacggta	ggcgtgtgta	aaacatacga	agctatcggt	3240
aaagtgaaaa	acatttctag	accaagtgtt	cctgaatcat	tccgtgtatt	gatgaaagaa	3300
cttcaaagtt	taggtttaga	tgtgaaagtg	atggatgagc	acgataacga	aatcgaaatg	3360
gcagatgttg	aagatgaaga	tacaacagag	cgcaaagtag	atttgcaaca	aaaagatgcg	3420
ccacaatctc	aacaagaaga	aactgctgat	tagtcaatat	attagatata	aggaatgggtg	3480
ttaggaacaa	gtgctacgga	tgtttaaaca	taatgtgttt	tgagttgcat	ccatcctaac	3540
ctttccttaa	tttcaataga	tgtaaatcaa	tcaaattggca	cagctaactc	aaattgaagg	3600
aggtaggctc	cttgattgat	gtaataaatt	tccattatat	gaaaatcggt	ttagcctcac	3660
ctgaaaaaat	tcgttcatgg	tcatatgggtg	aagtgaaaaa	accagaaaca	attaattatc	3720

gtacgttaaa	accagaaaaa	gatggcttat	tctgtgagag	aatattcggc	ccaactaaag	3780
attgggaatg	tagttgtggt	aaatacaaac	gtgtgcgtta	taaaggcatg	gtttgtgata	3840
gatgtggtgt	tgtaa					3855

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 3698

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus caprae*

&lt;400&gt; 5

atgaaactta	atagaaattc	aaactaaatc	ttacgattgg	ttccttaaag	aaggttttatt	60
agaaatgttt	agagacattt	ctccaattga	agatttcaca	ggtaacctat	ctttagaatt	120
tgtagattat	agattaggtg	atccgaaata	cgatttagaa	gaatctaaaa	accgtgacgc	180
tacttatgct	gcacctcttc	gtgtgaaagt	acgtctcatt	attaaagaaa	caggcggaagt	240
gaaggaaaca	gaagtcttca	tgggtgattt	cccattaatg	actgacacag	gtacattcgt	300
tatcaatggt	gctgaacgtg	ttatcgtttc	tcaattagta	cgttcaccat	cggtttattt	360
caacgagaaa	attgataaaa	atggacgcga	aaactacgat	gcaactatca	ttcctaaccg	420
tgggtgcttg	ttagaatatg	aaacagatgc	gaaagatgta	gtatacgttc	gtatcgatag	480
aactcgtaaa	ttaccattga	cagtattatt	acgtgcacta	gatttctcaa	ctgatcaaga	540
aattgttgat	ttactaggtg	agagtgaata	tttacgtaat	acattagaaa	aagatgggtac	600
tgaaaatact	gaacaagcat	tattagaaat	ttatgaacgt	ttacgtcctg	gcgaaccacc	660
aacagttgaa	aatgctaaaa	gcttattata	ctcacgcttc	ttcgacccta	aacggttata	720
tttagcaagt	gttgggtcgtt	acaaagctaa	caaaaagtta	catttaaaac	accggttatt	780
taatcaaaaa	ttagcagAAC	ctattgttaa	tagtgaaaca	ggtgagattg	tagctgaaga	840
aggtactgta	ttagatcgtc	gtaaaattga	cgaaatcatg	gacgttttag	aaacaaacgc	900
taacagtga	gttttcgaat	tagaaggtag	cgttattgac	gaacctgttg	aaattcaatc	960
aattaaagtc	tatgtacctt	atgatgaaga	aggtcgcaca	actactgtta	ttggtaatgc	1020
attaccagat	tcagaagtta	aatgtattac	tccagctgat	atcattgcgt	caatgagtta	1080
tttcttcaac	tatttaaatg	gtattggtta	tacagatgat	atcgaccact	taggtaaccg	1140
tcgtttacgt	tcagttgggtg	aactttttaca	gaaccaattc	cgtatcggtt	tatcaagaat	1200
ggaacgtggt	gttcgtgaaa	gaatgtctat	tcaagacact	gattcaatca	caccacaaca	1260
attaatcaac	attcgtccgg	ttattgctgc	tattaaagaa	ttcttcggaa	gttcacaatt	1320
atcgcaattc	atggaccaag	ctaaccatt	agctgagttg	actcataaac	gtcgtctatc	1380
agcattagga	cctggtgggt	taacgcgtga	acgtgcccaa	atggaagtgc	gtgacgttca	1440
ctattctcac	tatggccgta	tgtgtccaat	cgaacacact	gagggaccac	acattgggtt	1500
aatcaactca	ttatcaagtt	atgcacgagt	aaatgaattt	ggtttttattg	aaacacctta	1560
tcgtaaagta	gatttagata	cgaattctat	cactgaccaa	attgattact	taactgctga	1620
tgaagaagat	agttatgttg	ttgcccagc	gaactctcgt	ttagacgaaa	atgggtcggtt	1680
cttagatgac	gaagttgttt	gtcgtttccg	tggttaataac	acagttatgg	ctaaagagaa	1740
aatggactac	atggatgtat	ctcctaaaca	agtagtatct	gcagcgacag	cttgatttcc	1800
attcttagaa	aatcagtgact	ctaaccgtgc	attaattgggt	gcgaacatgc	aacgtcaagc	1860
agtaccattg	atgaatccag	aagcgccatt	tggttggtaca	ggtatggaac	atgtagccgc	1920
acgtgattca	ggtgcagcga	ttactgctaa	acatagagga	cgcttggaac	acgttgaatc	1980
taacgaagta	ttagtacgtc	gttttagtaga	agaaaacggc	actgaacatg	aagggtgaatt	2040
agatcgttac	ccattagcta	aattcaaacg	ttcaaactct	ggtacatggt	ataaccaacg	2100
tccaattggt	tctgttggtg	atgtagtaga	atacaatgaa	attttagctg	acggtccttc	2160
aatggaatta	aggttgaaat	ggcatagggg	cgtaacgttg	ttagttgggt	tcattgacttg	2220
ggacgggttat	aactacgagg	atgctgttat	catgagtga	cgtttagtta	aagatgacgt	2280
ttatacttct	attcacattg	aagaatatga	atctgaagct	cgtgatacta	agttaggacc	2340
tgaagaaatt	actcgtgaca	ttcctaacgt	atctgaaagt	gcacttaaaa	acttagacga	2400
tcgcgttatc	gtttatgttg	gtgctgaagt	taaagacggt	gacatcttag	taggtaaagt	2460
aacgcctaaa	ggtgtaactg	aattaacagc	tgaagaaaga	ttattacatg	ctatcttcgg	2520
tgaaaaggct	cgtgaagtcc	gcgatacatc	attacgtgta	ccacatgggtg	caggcggtat	2580
cgttctagat	gttaaagtat	tcaatcgtga	agaaggcgat	gatacgttat	ctccaggtgt	2640
aaaccaattg	gtacgtgttt	atatacgttca	aaaacgtaaa	attcatgtag	gggacaaaat	2700
gtgtggtcgt	cacggttaaca	aagggtgttat	ctctaaaatt	gttcctgaag	aagatatgcc	2760
atacttacca	gatggtcgtc	caatcgacat	catgttaaac	ccacttggtg	taccatcacg	2820
tatgaacatc	ggacaagtac	ttgagttgca	tttaggtatg	gctgctaaga	acttaggcat	2880
ccatgtagca	tctccagtat	tcgatgggtg	aaacgatgat	gatgtatggt	caacaattga	2940
agaagcaggt	atgggtcgtg	atggtaaaac	tgtattatac	gatggacgta	cagggtgaacc	3000

attcgataac	cgtattttctg	taggtgtcat	gtacatgctt	aaacttgctc	acatgggtga	3060
cgataaatta	cacgcacgtt	caactggacc	atactcactt	gttacacaac	aaccacttgg	3120
tggtaaagca	caattcgggtg	gtcaacgctt	cggtgagatg	gaggtatggg	cacttgaagc	3180
atatgggtgct	gcatacacat	tacaagaaat	cttaacttat	aaatctgacg	atacagtagg	3240
tcgtgttaaa	acttaccgaat	ctatcgttaa	aggtgaaaat	atctctagac	caagtgttcc	3300
agaatcattc	agagtattga	tgaaagaatt	acaaagttta	ggattagatg	ttaaagtgat	3360
ggacgagcaa	gacaacgaaa	ttgaaatggc	ggacgttgat	gatgaagatg	caactgaacg	3420
caaagtagat	ttacaacaaa	aaaatgctcc	cgaatcacia	aaagaaacaa	ctgattaata	3480
agcacttaag	ataaatgaat	cctaaagagg	ttatgagatg	gttgccattt	caacctcttt	3540
aagggtattcg	atttcaatga	atgtaaataca	atcaaatagc	acagctaata	taaattgaag	3600
gaggtaggct	ccttgattga	tgtaaataat	ttccattata	tgaaaatagg	attagcttca	3660
cctgaaaaaa	ttcgttcttg	gtcttatggt	gaagttaa			3698

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 3851

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus intermedius*

&lt;400&gt; 6

atgtaaactt	aatagaaatt	cmaactaaat	cgtatgattg	gttcttaaaa	gaagggttat	60
tagaaatggt	ccgtgatatt	tctcctattg	aagacttcac	gggtaatctt	tcattagaat	120
ttgttgatta	tagattaggt	gaaccaaagt	atcgatttaga	agaatcaaaa	aaccgtgatg	180
caacatacgc	ggcaccatta	cgtgtgaaag	ttcgtttaat	cattaaagaa	acaggcgaag	240
tgaaagatca	agaagtattt	atgggtgatt	tcccattaat	gacagaaaca	ggtacttttg	300
tgattaacgg	ggcagaacgt	gttatcgtat	cacaattagt	ccgttcacca	tctgtatact	360
tcaatgaaaa	attagataaa	aacggatgcg	tgaattatga	tgcgacagtc	attcctaacc	420
gtgggtgctt	gttggaatat	gaaacagatg	cgaaagatgt	cgtttatgtg	cgtatcgata	480
gaacgagaaa	gttaccatta	acagtattat	tacgtgcgtt	aggttattca	acagaccaag	540
aaattattga	attaattggg	gataatgaat	atttacgtaa	tacattagaa	aaagatagca	600
cagaaaatac	agagcaagca	ttacttgaat	tttatgaacg	tttacgtcca	ggtgaaccac	660
ctactgtaga	aaacgcaaaa	agcttattat	actcacgttt	ctttgacctt	aaacgttatg	720
atttagcaag	cggttgacgt	tataaagcaa	acaaaaagtt	acatttaaaa	caccgcctat	780
tcaatcaaaa	attagctgaa	ccgatcggtt	atactgaaac	aggcgaaatt	gttgctgaag	840
aaggcactgt	tttagatcgt	cgtaaattag	atgaaattat	ggacgttctt	gaaacaaatg	900
cgaatgcaca	agtttatgaa	cattccaaac	ggatcattga	tgagccagta	gaaattcaat	960
caattaaagt	atattgtacc	aatgatgatg	agaacagtac	aacaacagtt	attggtaatg	1020
cattcccaga	ttcagaagtg	aaatgtatta	caccggctga	tattgtggca	tctatgtcat	1080
acttcttcaa	cctattacat	ggtattgggt	acacagacga	tattgaccac	cttggttaacc	1140
gccgtctacg	ttcagttggg	gagttgttac	aaaaccaatt	ccgtatcggt	ttatcaagaa	1200
tggaaacgtg	ggtagctgaa	agaatgtcta	ttcaagatac	agactctatc	acaccgcaac	1260
aatattattga	tattcgtcca	gtgattgcat	caattaaaga	gttctttggg	agctcgcaat	1320
tatctcaatt	catggaccac	gcgaaccac	ttgctgagtt	gactcacaaa	cgtcgtctat	1380
cagcattagg	acctgggtgg	ttaacgcgtg	aacgtgctca	aatggaagtg	cgtgacgtac	1440
actactctca	ctatgggtcgt	atgtgtccaa	tcgaaacacc	tgagggacca	aacattgggt	1500
tgatcaactc	attatctagt	tatgcacgtg	tgaacgaatt	tggttttatc	gaaacaccat	1560
atcgtaaagt	tgatattgaa	acaaatcaga	ttactgacca	aatcgactac	ttaactgctg	1620
atgaagaaga	tagttatggt	gtcgcacaa	cgaactcacg	tcttgatgaa	aacggtcgct	1680
ttattgatga	tgagattgta	gttcgtttcc	gtggtaacaa	cacaacgatg	gcgaaagaaa	1740
aaatggacta	catggacgta	tcgccgaaac	aagttgtatc	agctgcgaca	gcgtgtatcc	1800
cattctttaga	aaacgatgac	tctaaccgtg	cgttaatggg	tgcgaaacatg	cagcgtcaag	1860
cggtagcgtt	gttaaaccct	gaatctccat	ttgtagggtac	aggtagggaa	cacgttgctg	1920
cacgtgactc	aggtgctgct	gtcatttcta	aatatcgctg	tcgtgttgaa	catgtccaat	1980
ctagcgagat	tttagtcctg	cgtttagttg	aagaaaacgg	tcaagaagta	gatggtagct	2040
tagatcggtta	tccattagcg	gttcgaactc	gttcgaactc	aggtagatgt	tataaccaac	2100
gtccaatcat	cgcaaaagg	gacattgtgg	aaaaaggcga	aatccttgct	gatggctcct	2160
caatggaact	tggtgaaatg	gcattaggtc	agaaacgtag	tagttgggtc	atgacttggg	2220
acgggtataa	ctatgaggat	gccgttatca	tgagtgaacg	tttgggttaa	gatgatgtgt	2280
acacgtctat	tcatattgaa	gaatacgaat	cagaagcgcg	tgacacaaaa	cttggaacctg	2340
aagaaatcac	acgtgatatt	cctaacgtat	ctgaaaatgc	actgaaaaac	ttagatgatc	2400
gcggtatcgt	ttatgtaggt	gcggaagtta	aagacggcga	catcttagtg	ggtaaagtaa	2460

```

cgccaaaagg tgaacagaa ttaactgcag aagaacgttt attacatgca atctttggtg 2520
aaaaagcacg tgaagtacgt gatacatcat tacgtgtacc tcacggcgcg ggcggtattg 2580
tacttgatgt taaagtgttc aatcgtgaag aaggcgatga ttacttttca ccagggtgtg 2640
accaactcgt acgtgtttac attgttcaaa aacgtaaaat tcatgtaggg gacaaaatgt 2700
gtggtcgtca cggtaacaaa ggtgtcatct ctaaaattgt tcctgaagaa gacatgccgt 2760
acttaccaga cggtcgtcca atcgacatca tgttgaaccc actcgggtgta ccatctcgta 2820
tgaacatcgg acaagtttta gagctccact taggtatggc agctaaaaac ttaggtatcc 2880
acgttgcatc accagtattc gatggtgcga acgatgatga cgtatggtct acaattgaag 2940
aagcagggtat ggcacgtgat ggtaaaactg tcctttacga tggacgtaca ggtgaaccat 3000
tcgacaaccg tatctctgta ggtgtcatgt acatgctgaa acttgcacac atggttgatg 3060
acaagcttca cgcacgttct acaggacctt actcacttgt tacacaacaa ccgcttggtg 3120
gtaaagcaca gtttggtgga caaagatttg gtgagatgga ggtatgggca cttgaagcat 3180
acggtgcagc atacacatta caagaaatcc tcacatacaa atcagatgac acagtaggtc 3240
gtgtgaaaac ttacgaagct atcgttaaag gtgaaaacat ctcaagacca agtggttcctg 3300
aatcattccg cgtattgatg aaagaattac aaagtttagg tcttgacgtt aaagtgatgg 3360
acgaacaaga taacgaaatt gaaatgcgtg acttagacga tgatgatatt ccagatcgca 3420
aagtcaacat tcaaccatca actgttcctg aatcacaaaa agaatttaac gaataatgat 3480
gaattgtaga taagattaaa cggaatagaa acacttggtt aagcttgagt ttgtgttcaa 3540
atgtgacagt tgaaatacaa cagatgtcat gtacgattaa tctattcgga aatgtgatcg 3600
gaatccaacg agagggcttg ggtttcgtat catatccgat actgcaacat ttttaagata 3660
aattgtaa atcaacta gcacagttaa tttaaactaa aggaggtagg ctccttgatt 3720
gatgtaaata aattccatta catgaaaata ggactcgctt cacctgaaaa aattcgttct 3780
tggtcatatg gtgaggtcaa aaagccagaa acaattaact accgtacgtt aaaaccagaa 3840
aaagatggtg a

```

<210> 7  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle:amorce

<400> 7  
 aaccaattcc gtatnggttt 20

<210> 8  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle:amorce

<400> 8  
 ccgtcccaag tcatgaaac 19

<210> 9  
 <211> 17  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle:amorce

<400> 9  
 caattcatgg accaagc 17

<210> 10  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle:amorce

<400> 10  
 gcnacntgnt ccatacctgt 20

<210> 11  
 <211> 518  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus xylosus*

<400> 11  
 ttcagggttc atcaatggca ctgcttgacg ttgcatgttt gcacccatca atgcacggtt 60  
 agagtcacatca ttttctaaga aaggaatata tgctgtcgca gcagaaacaa cttgttttgg 120  
 tgaaacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccataact gtgttattac cacggaaacg 180  
 acaaacaact tcatcatcta agaaacgacc attttcatct aatttagagt tggcttgtgc 240  
 taccacataa ctatcctctt catcagctgt taagtaatcg atttgctcag taatgctgtt 300  
 tgtttcaagg tctactttac gataagggtt ttcaatgaaa ccaaattcat tcacacgtgc 360  
 ataactagac aatgagttga taagtccaat gtttggacct tcaggcggtt cgattggaca 420  
 catacggcca tagtcagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
 taaaccacca ggtcctagag cagataaacg acgtttgt 518

<210> 12  
 <211> 507  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus warneri*

<400> 12  
 ttcagggttc atcaatggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacggtt 60  
 agagtcacatcg ttttctaaga atggaatata agctgtacg gctgaaacaa cctgcttagg 120  
 tgaaacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccattact gtgttattac cacggaaacg 180  
 acaaactact tcgtcatcta tgaaacgtcc gttttcatct aaacgtgaat tcgcttgggc 240  
 aacaacataa ctatcttctt cgtcagcagt taaataatca atttggtctg taatcgcat 300  
 agtgtctaaa tccactttac gatatgggtt ttcaatgaaa ccaaattcgt ttacacgtgc 360  
 ataactagat aatgagttga ttaatccaat gtttggaccc tctggcggtt caattggaca 420  
 catacgacca tagtgagaat agtgtacgtc acgtacctcc atttgtgcac gttcacgtgt 480  
 taaaccacca ggtcctaaag cagataa 507

<210> 13  
 <211> 518  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus simulans*

<400> 13  
 ttcagggttc atcaatggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta acgcacggtt 60  
 agagtcacatcg ttttctaaga atgggataca tgctgtcgct gcagatacaa cttgttttagg 120  
 agaaacgtcc atatatgcca ttttctctct atccatagtt gtgttggttac cacggaaacg 180  
 acaaacgatt tcttcgtcta agaaacgacc ttcgtcatct aaacgtgagt tcgcttgcgc 240  
 aacaacatag ctgtcttctt cgtctgcagt aaggtaatcg atttgatctg ttaccgcatt 300  
 tttctcatgg tcaactttac gatatgggtt ttcaatgaaa ccaaattcat taacacgcgc 360  
 ataacttgat aatgagttga ttaaaccgat gttcggaccc tctgggtgtc cgattggaca 420  
 catacggcca tagtgagagt aatgcacgtc acgtacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480

taaaccacca ggtccaagtg cagatagacg acgtttat

518

<210> 14

<211> 507

<212> ADN

<213> *Staphylococcus sciuri*

<400> 14

ttctgggttc attaaaggta cgcgttgacg ttgcatgttt gcaccataa gcgcacgggt 60  
agagtcacgc ttttctaaga atggaatata tgctgtcgct gcagaaacaa cttgttttagg 120  
agatacatcc atgtagtcca tgcgttcttt aggttttagta gtgttgccc caccgaaacg 180  
acaaagaact tcatcatcaa cgaatttacc tgtttcatca agtacagagt ttgcttgtgc 240  
aactacatag ctgtcttctt cgtcagctgt taagtagtgc attctgtcag taacttgggt 300  
tgtctcgatg tttaccttac gataagggtt ttcaatgaaa ccaaattcat taactcttgc 360  
ataacttgat aatgagttga ttaaaccaat gtttggccc tcaggcgttt caattggaca 420  
catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc ataccagcac gctcacgagt 480  
taaaccaccc ggtcctaata ctgatag 507

<210> 15

<211> 518

<212> ADN

<213> *Staphylococcus schleiferi*

<400> 15

ttctgggttt aacaatggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatca atgcacgggt 60  
agagtcacgc ttttctaaaa acggaatata tgctgtcgca gctgaaacaa cttgttttagg 120  
cgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt agccatagtt gtgttggtac caccgaaacg 180  
acaaacgatt tcgtcatcga taaaacgtcc gtttcatca agtcttgagt tcgcttgggc 240  
aacaacataa ctgtcttctt catcagcagt aaggtaatca atacggctctg taattgtgtt 300  
tgtttcaagg tctacttttc tgtatggagt ttcaatgaaa ccaaattcat tcacacgtgc 360  
ataacttgaa agtgagttga tcaaaccaat gtttggaccc tctgggtgtc cgattggaca 420  
catacggcca tagtgagaat agtgtagctc acgaacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480  
taaaccacca ggccctaaag ctgataaacg acgtttgt 518

<210> 16

<211> 518

<212> ADN

<213> *Staphylococcus saprophyticus*

<400> 16

ttctggattc atcaatggca ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatca atgcacgggt 60  
agagtcacgc ttttctaaga aaggaatata tgctgtcgct gcagaaacaa cttgttttagg 120  
tgagacatcc atataatcca ttttttcttt ggccataact gtattattac caccgaaacg 180  
acaaacaact tcgtctgcta tgaaacggcc attttcgtct aatgttgagt ttgcttgtgc 240  
tacaacatag ctatcttctt catcagctgt taaatagtca atttgatccg tgattgaatt 300  
cgtttcaaga tccactttac ggtaagggtt ttcaataaag ccgaattcat ttacacgcgc 360  
ataactagat aacgagttaa taagtccgat gtttggaccc tctggcgttt caattggaca 420  
catacggcca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgcgt 480  
taaaccacca ggtcctagag ctgataaacg acgtttat 518

<210> 17

<211> 518

<212> ADN

<213> *Staphylococcus saccharolyticus*

<400> 17

ttctgggttc attaatggta ctgcttgacg ttgcatgttt gcaccatta atgctcgggt 60

```

tgagtcacgcg ttttctaaga atgggataca tgcagtagct gctgaaacta cttgtttagg 120
tgatacgtcc ataatagttca ttttttcttt agccatcact gtgttattgc cagcaaacg 180
acaaacaact tcatcatcta agaagcacc attttcatca agacgtgagt ttgcttgtgc 240
aacaacataa ctatcttctt catcagcagt taagtagtca atttggtcag tgattgaatt 300
agtatctaaa tcaactttac gataagggtg ttcaataaaa ccaaattcat ttactcttgc 360
ataactagat aatgagttaa ttaatccaat gtttgggccc tcagggtggtt caatagggca 420
catacgaccg tagtgagaat aatgcacgtc acgtacttcc atttgagcgc gttcacgagt 480
taaaccacca ggtcctagag ctgataaacg acgtttat 518

```

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 508

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus pulveris*

&lt;400&gt; 18

```

ttcaggattc attaaaggca ctgcttgacg ttgcatgttt gcaccataa gcgcacggtt 60
agagtcacgc ttttctaaga aaggaatata tgctgtcgca gcagaaacaa cctgtttagg 120
tgatacatcc atgtaatcca tacgttcttt aggttctgta gtattatccc cagcgaaacg 180
acaaagtact tcatcatcaa cgaatttacc tgtttcatca agtactgagt ttgcttgcgc 240
tacaacatag ctgtcttctt cgtcagctgt taaatagtca attctgtcag taacttgggt 300
tgtttcgata ttaaccttac gataaggcgt ttcaataaaa ccaaattcat taactctcgc 360
ataacttgat aaagagttaa ttaaaccgat gtttgggtccc tcagggtggtt caattggaca 420
catacgacca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc ataccagcac gttcacgaag 480
ttaaacgcgc ggttcctaag gctgatag 508

```

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus muscae*

&lt;400&gt; 19

```

ttcaggattc aacaatggca cgccttgacg ttgcatgttc gcaccatta aggcacggtt 60
agagtcacgc ttttctaaga atggaatata tgctgtcgca gcagaaacaa cttgcttcgg 120
cgatacgtcc atgtagtcca ttttctcttt tgccattggt gtgttggttac cagcgaaacg 180
acatacaatc tcatcatcaa taaagcgacc attttcatct aaacgtgagt tcgcttgtgc 240
aaccacataa ctatcttctt catcagcagt taaatagtgc atttgatcag tgattgtgtt 300
cgtctcgata tcaactttac gatatggtgt ttcaatgaaa ccaaattcat taacacgtgc 360
ataactagat agtgagttga tcaaaccaat gttcagttccc tctgggtgtc caatcggaca 420
catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480
caaaccacca ggcctaagt ctgaaagacg acgcttat 518

```

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus lugdunensis*

&lt;400&gt; 20

```

ttcagggttc atcaacggaa ctgcttgacg ttgcatgttt gcacccatca atgcacggtt 60
agagtcacgc ttctctaaga atggaatata tgctgtcgca gctgaaacaa cttgtttagg 120
agatacatcc atgtagtcca ttttttcttt agccataaca gtattattac cgcggaaacg 180
gcatactact tcatcatcta agaaacgacc attttcatca aggcgagagt tcgcttgtgc 240
aacgacataa ctgtcttctt catcagcagt taagtagtca atttgatctg tgattgcatt 300
tgtatcaata tctactttac gataaggcgt ttcaataaag ccaaactcgt tgacacgcgc 360
ataactagat aatgagttaa tcaaaccaat gtttggaccc tctgggtgtt caatcggaca 420
catacggcca tagtgagaat aatgcacgtc acgaacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480
taaaccacca ggtcctaacg cagataaacg acgtttgt 518

```

<210> 21  
 <211> 507  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus lentus*

<400> 21  
 ttcagggttc attaaaggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta aggcacgggt 60  
 agagtcacgc ttttcaagga aaggaataca tgctgatggt gcagaaacaa cttgttttagg 120  
 agatacatcc atgtaatcca tacgttcttt aggttttagta gtgttggtcac cacggaaacg 180  
 acaaagaact tcatcgctcg cgaatctacc agtttcatct aatactgagt ttgcttggtgc 240  
 aacaacataa ctatcttctt catcagcagt tagataatca attctgtctg ttacttgggt 300  
 agtttctgata ttaactttac gatatgggtg ttcaataaag ccaaactcgt taactctagc 360  
 ataacttgaa agtgagttga ttaaaccaat gtttgggtccc tctgggtgtct caatcggaca 420  
 catacgacca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc ataccagcac gttcacgagt 480  
 taaaccgccg ggtccaagcg ctgatag 507

<210> 22  
 <211> 505  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus kloosii*

<400> 22  
 ttcacgggttc atcaatggta ccgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta aggcacgggt 60  
 agagtcacgc ttttctaaga aaggaataca tgctgtcgca gccgaaacaa cttgttttgg 120  
 tgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt cgccataact gtgttggttac cacggaaacg 180  
 acaaactact tcatcatcta agaaacgacc attttcatct aatttagagt tagcttgctgc 240  
 taccacatag ctatcttctt catcagctgt taaatagtca atttgatctg tgattgaatt 300  
 agtttctaaa tcaactttac ggtatgggtg ttcgataaag ccaaattcat taacacgtgc 360  
 ataacttgat aatgagttga taagtccaat gtttggacc tctggcggtt cgattggaca 420  
 catacgacca tagtgagaat agtaacgtca cgcacttcca tttgagcacg ttcacgagtt 480  
 aaaccaccag gtccaagcca gatag 505

<210> 23  
 <211> 518  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus intermedius*

<400> 23  
 ttcagggttt aacaacggta ccgcttgacg ctgcatgttc gcacccatta acgcacgggt 60  
 agagtcacgc ttttctaaga atgggataca cgctgtcgca gctgatacaa cttgtttcgg 120  
 cgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt cgccatcggt gtgttggttac cacggaaacg 180  
 acatacaatc tcatcatcaa taaagcgacc gttttcatca agacgtgagt tcgcttggtgc 240  
 gacaacataa ctatcttctt catcagcagt taagtagtgc atttggtcag taatcgtatt 300  
 tgtttcaata tcaactttac gatatgggtg ttcgataaaa ccaaattcgt tcacacgtgc 360  
 ataactagat aatgagttga tcaaaccaat gtttgggtccc tcagggtggtt cgattggaca 420  
 catacgacca tagtgagagt agtgtacgtc acgcacttcc atttgagcac gttcacgcgt 480  
 taaaccacca ggtcctaatt ctgatagacg acgtttgt 518

<210> 24  
 <211> 518  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus hyicus*

<400> 24  
 ctctgggttc aataaaggca cggcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacgggt 60  
 cgagtcacgc ttttctaaga atgggataca tgctgtcgcc gcagaaacaa cttgtttcgg 120  
 tgatacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccattggt gtattgttcc cacggaaacg 180  
 acaaacgatt tcgtcgctcg taaagcgctc attttcatct aaacgtgagt tcgcttgggc 240



11/24

```

aacaacataa ctgtcttctt catccgcagt taagtaatca atttgatctg ttattgtatt 300
cgtttcaagg tccactttac ggtaaggcgt ttcaatgaaa ccaaattcgt taacacgcgc 360
ataacttgaa agtgagttga ttaatccaat gtttggaccc tctggcggtt cgattggaca 420
catacgaccg tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atttgggcac gttcacgcgt 480
taaaccacca ggtcctaagt cagataaacg acgttttg 518

```

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus hominis*

&lt;400&gt; 25

```

ttcaggattc atcaatggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta acgcacgggt 60
agagtcacgc ttttcaagga atggaatata agctgtcgct gctgatacta cttgtttagg 120
agatacatcc atgtagtcca tttttctttt tgccataaca gtgttggtac cacggaaacg 180
acataccact tcatcatcta ggaaacgacc attttcatct aaacgagaat tggcttggtc 240
aactacatag ctatcttctt catcagcagt taaataatca atttgatcag taatcgaatt 300
ggtatcaata tctactttac gatatgggtg ttcgataaaa ccaaattcat ttacacgtgc 360
ataactagat aatgagttaa ttaaaccaat gtttggtccc tctgggtgtt caattggaca 420
catacgacca tagtgagaat agtgtagctc acgaacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480
taaaccacca ggtcctaaag cagaaagacg acgttttag 518

```

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus haemolyticus*

&lt;400&gt; 26

```

ttctgtgttc atcaatggta ctgcttgacg ttgcatgttt gcacccatta atgcacgggt 60
agagtcacgc ttttcaagga aaggaatata tgctgtcgca gctgaaacta cttgtttagg 120
agatacgtcc atgtagtcca ttttctcttt agccataact gtgttattac cacggaaacg 180
acatacgact tcatcatcta agaaacgacc attttcatct aagcgagagt tcgcttgggc 240
aactacatag ctatcttctt catcagcagt taagtagtgc atttgatctg taatagagtt 300
agtgtctaag tctactttac gatatgggtg ttcaatgaaa ccaaattcat tcacacgtgc 360
ataacttgat aatgagttaa tcaaaccaat gtttggtccc tctggagtct cgatcggaca 420
catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taaaccacca ggtcctaagt cagaaag 507

```

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus gallinarum*

&lt;400&gt; 27

```

ttcaggattc atcaaaggta cagcttgacg ttgcatgttc gcacccatca atgcacgggt 60
agagtcacgc ttttctaaga aaggaatata tgctgtcgca gcagatacaa cctgtttagg 120
tgatacatcc atgtagtcca tttttctttt tgccattaca gtgttggtac cacggaaacg 180
acaaacgact tcatcttcta cgaaacgacc attttcatct aatacagagt ttgcttggtc 240
tactacataa ctgtcttctt catcagctgt taagtagtca atttgatctg taatagattg 300
tgtttcaata tcaactttac gatatgggtg ttcaatgaaa ccaaattcat ttacacgcgc 360
ataacttgat aatgagttga taagtccgat gtttggaccc tcagggtgtt cgattggaca 420
catacggcca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgagt 480
taaaccacca ggtcctaagt ctgatag 507

```

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

12/24

<213> *Staphylococcus felis*

&lt;400&gt; 28

```

ttcgggattc attaaaggta cagcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacgggt 60
agagtcacgc ttttctaaga atgggataca tgccgtcgca gcagaaacga cttgcttagg 120
cgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt ggccatcggt gtattgtttc cgcggaaacg 180
acatacaatc tcgtcatcca agaaacggcc ttcttcgtct aatcgtgcgt ttgcttgtgc 240
aacaacataa ctatcttctt catcagctgt aagatagtca atttggtctg taattttatt 300
tgtctcaaga tcgactttac gatatgggtg ttcgataaat ccaaattcgt taacacgtgc 360
ataacttgat aatgagttga ttaatccgat gttcggcccc tctggcggtt caataggaca 420
catgcgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atctgtgcac gttctctcgt 480
taaaccacca ggtcctaata cggatagacg acgtttat 518

```

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus equorum*

&lt;400&gt; 29

```

ttcaggattc atcaatggca ctgcttgacg ttgcatgttt gcacccatca atgcacgggt 60
agagtcacgc ttttctaaga aaggaataca tgctgtcgca gcagaaacaa cttgttttagg 120
tgaaacatcc atgtagtcca ttttttcttt agccataact gtgttattac cacggaaacg 180
acaaacaact tcgtcttcta cgaaacgacc attttcatct aatacagagt ttgcttgagc 240
tactacatag ctgtcttctt cgtcagctgt taagtagtca atttggtctg tgattgaatg 300
tgtttcaaga tctactttac ggtaagggtg ttcaatgaaa ccaaattcat tcacacgcgc 360
ataactagat agtgagttga taagtccgat attcggaccc tctgggtgtt cgattggaca 420
catacgacca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taaacegccg ggtcctaata ctgataa 507

```

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus epidermidis*

&lt;400&gt; 30

```

ttcaggattc attaaaggca ccgcttgacg ttgcatgttt gctcccatta acgcacgggt 60
agagtcgtca ttttctaaga atggaataca tgctgttgct gctgaaacaa cttgttttagg 120
tgatacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccataaca gtgttattac cacggaaacg 180
acaaacaact tcatcatcta agaaacgacc attttcatca agtctagaat tagcctgtgc 240
aacaacgtag ctatcctctt catcagctgt caaataatct atttgatcag tgattgagtt 300
tgtatctaaa tccactttac gatatggcgt ttcaataaaa ccaaattcat tctacttagc 360
ataacttgac aatgagttta ttaaaccaat attaggaccc tcagggtgtt caattggaca 420
catacgccca tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taatccacca ggccttagag cagataaacg acgtttgt 518

```

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus cohnii*

&lt;400&gt; 31

```

ttctggattc atcaatggga ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacgggt 60
agagtcacgc ttttctaaga atggaataca tgctgttgct gcagaaacaa cctgttttagg 120
agatacatcc atgtaatcca ttttttcttt tgccataact gtgttattac cacggaaacg 180
acaaacaact tcatcatcta agaagcgacc attttcatct aacttagaat ttgcttgtgc 240
tactacatag ctatcttctt cgtcagctgt taaataatca atttgatctg tgatactatt 300
cgtttcaaga tctactttac gatatggcgt ttcaatgaaa ccaaattcat ttacacgtgc 360

```

```

ataacttgat aatgagttaa tcaaaccaat gtttgggtccc tctgggtgttt cgattggaca 420
catacgaccg tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taaaccacca ggtcctaata ctgatag 507

```

```

<210> 32
<211> 507
<212> ADN
<213> Staphylococcus chromogenes

```

```

<400> 32
ctcaggattt aacaaaggca cgcgttgacg ttggatgttc gcaccatta acgcacggtt 60
agagtcacgc ttttctaaga acggaatata tgcagttgcc gcagaaacaa cttgcttcgg 120
tgatacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccattgtt gtattgttcc cacggaaacg 180
acaaacgatt tcgtcgtcga taaagcgtcc attttcatct aaacgtgagt tcgcttgggc 240
aacaacataa ctgtcttctt cgtccgcagt taaataatca atttgatcag taattgcgtt 300
cgtttcaagg tctactttac gatacggcgt ttcaataaaa ccaaattcat taacacgcgc 360
ataacttgaa agtgagttga ttaatccaat atttggaccc tctgggtgttt cgattggaca 420
catacgaccg tagtgagaat agtgaacgtc acgcacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taaaccacct ggtcctaagc cagataa 507

```

```

<210> 33
<211> 1025
<212> ADN
<213> Staphylococcus carnosus

```

```

<400> 33
ttctggattc atcaatggta cgcgttgacg ttgcatgttc gcaccatta atgcacggtt 60
agagtcacgc ttttctaaga atgggataca agctgtcgca gctgatacta cttgttttgg 120
tgatacgtcc atgtagtcca ttttgtctct gtccatcatt gtgttggtac cacggaaacg 180
acaaacaact tcttcgctga tgaagtgacc ttcatcatct aaacgagagt tcgcttgggc 240
tacaacatag ctgtcttctt cgtcagctgt tagatagtcg atttgatcag ttacagtatt 300
agtttcaagg tcaactttac ggtatggtgt ttcaataaaa ccgaactcgt taacacgtgc 360
ataacttgat aatgagttga tcaaaccaat gtttggaccc tcaggagttt cgattggaca 420
catacgacca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgagt 480
taaaccacca ggtcctaata cagataattc tggattcatc aatggtactg cttgacgttg 540
catgttcgca cccattaatg cacggttaga gtcattcatt tctaagaatg gaatacaagc 600
tgctcgtgca gatactactt gtttaggaga tacatccatg tagtccattt tctcttttagc 660
cataactgtg ttattaccac ggaaacgaca aacaacttcg tcatctaaga aacgaccatt 720
ttcgtctaaa cgagagttcg cttgggcaac aacataacta tcttcttcat cagcagttaa 780
gtaatacaat tggtcagtga tagaattcgt atctaaatct actttacgat aaggtgttcc 840
aataaaacca aattcattta ctcgtgcata acttgataat gaggttgatta aaccaatgtt 900
tggtccctca ggtgtttcga ttggacacat acggccatag tgagaatagt gaacgtcacg 960
cacttccatt tgggcacgtt cacgcgttaa accaccaggt cctaattgctg atagacgacg 1020
tttat 1025

```

```

<210> 34
<211> 518
<212> ADN
<213> Staphylococcus capitis

```

```

<400> 34
ttcagtggtc atcaatggta cgcgttgacg ttgcatgttc gcaccatta atgcacggtt 60
agagtcacgc ttttctaaga atggaatata tgctgtagct gctgatacaa cttgttttagg 120
tgatacgtcc atgtaatcca ttttttcttt tgccataact gtgttattac cacggaaacg 180
acaaacaacc tcgtcatcta agaaacgacc attttcgtct aaacgtgagt tggcttgggc 240
aactacatag ctatcttctt catcagcagt taagtaatcg atttgatctg tgatagagtt 300
cgtatctaaa tcaactttac gatacggtgt ctcgatgaaa ccaaattcat ttactcgcgc 360
ataacttgat aatgagttaa ttaaaccaat atttggaccc tctgggtgttt caattggaca 420

```

catacgacca tagtgtgagt aatgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgagt 480  
 taaaccacca ggtcctaata ctgatatagacg acgttttg 518

<210> 35

<211> 507

<212> ADN

<213> *Staphylococcus auricularis*

<400> 35

ttctgggttc attaaaggta ccgcttgacg ttgcatgttt gcaccataa gcgcacgggtt 60  
 agagtcatcg ttttctaaga atggaatata tgctgtcgct gcagaaacaa cttgttttagg 120  
 agatacatcc atgtagtcca tgcgttcttt aggttttagta gtgttggtccc cacggaaacg 180  
 acaaagaact tcatcatcaa cgaatttacc tgtttcatca agtacagagt ttgcttgtgc 240  
 aactacatag ctgtcttctt cgtcagctgt taagtagtcg attctgtcag taacttgggtt 300  
 tgtctcgatg tttaccttac gataagggtt ttcaatgaaa ccaaattcat taactcttgc 360  
 ataacttgat aatgagttga ttaaaccaat gtttgggtccc tcaggcgttt caattggaca 420  
 catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc ataccagcac gtcacgagt 480  
 taaaccaccc ggtcctaata ctgatatg 507

<210> 36

<211> 518

<212> ADN

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 36

ttctggattc atcaaaggca ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatca atgcacgggtt 60  
 tgagtcatca ttttctaaga atggaatata tgctgtcgct gctgaaacaa cttgcttcgg 120  
 cgatacatcc atataatcca ttttttcttt agccataact gtgttggttac cacggaaacg 180  
 acatacaact tcatcatcca tgaaacgacc attttcatct aatttagagt ttgcttgtgc 240  
 tacaacatag ctatcttctt cgtcagctgt taaatagtca atttgatcag tgatagcatg 300  
 tgtatctaaa tcaactttac gatatgggtt ttcaataaag ccgaattcat ttacacgtgc 360  
 ataacttgat aatgagttaa tcaatccaat gtttgggtccc tcagggtgtt caattggaca 420  
 catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
 taaaccacca ggtcctaata ctgatatag acgtttat 518

<210> 37

<211> 507

<212> ADN

<213> *Staphylococcus aureus anaerobius*

<400> 37

ttctggattc atcaaaggca ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatca atgcacgggtt 60  
 tgagtcatca ttttctaaga atggaatata tgctgtcgct gctgaaacaa cttgcttcgg 120  
 cgatacatcc atataatcca ttttttcttt agccataact gtattgttac cacggaaacg 180  
 acatacaact tcatcatcca tgaaacgacc attttcatct aatttagagt ttgcttgtgc 240  
 tacaacatag ctatcttctt cgtcagctgt taaatagtca atttgatcag tgatagcatg 300  
 tgtatctaaa tcaactttac gatatgggtt ttcaataaag ccgaattcat ttacacgtgc 360  
 ataacttgat aatgagttaa tcaatccaat gtttgggtccc tcagggtgtt caattggaca 420  
 catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
 taaaccacca ggtcctaata ccgatag 507

<210> 38

<211> 518

<212> ADN

<213> *Staphylococcus arlettae*

<400> 38

```

ttcacgggttc atcaacggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacgggtt 60
agagtcacgc ttttctaaga aaggaatata tgccgttgca gctgaaacta cttgcttagg 120
tgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt agccataact gtgttattac cgcggaaacg 180
acaaacaact tcgtcatcta aaaacttacc attttcatct aagttagagt tggcttgtgc 240
taccacatag ctgtcctctt catcagcagt taggtaatca atttgatctg taattgagtt 300
tgttgctaaa tctactttac ggtacggcgt ttcgataaag ccaaattcat ttacacgtgc 360
ataacttgat agtgagttaa ttaaaccgat gtttggcccc tctgggtgtt cgataggaca 420
catacggcca tagtgagaat agtgtacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taaaccacca ggtcctaata ctgataaacg acgtttat 518

```

<210> 39  
 <211> 556  
 <212> ADN  
 <213> *Staphylococcus caprae*

```

<400> 39
taaccattta gctgagttga ctcataaacg tcgtctatca gcattaggac ctgggtggttt 60
aacgcgtgaa cgtgcccata tgggaagtgc tgacgttcac tattctcact atggccgtat 120
gtgtccaatc gaacacactg agggaccaa cattgggttta atcaactcat tatcaagtta 180
tgcacgagta aatgaatttg gttttattga aacaccttat cgtaaagtag atttagatac 240
gaattctatc actgaccaa ttgattactt aactgctgat gaagaagata gttatgttgt 300
tgcccaagcg aactctcgtt tagacgaaaa tggtcgtttc ttagatgacg aagttgtttg 360
tcgtttccgt ggtaataaca cagttatggc taaagagaaa atggactaca tggatgtatc 420
tcctaaacaa gtagtatctg cagcgacagc ttgtattcca ttcttagaaa atgatgactc 480
taaccgtgca ttaatgggtg cgaacatgca acgtcaagca gtaccattga tgaatccaga 540
agcgccattt gttggt 556

```

<210> 40  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: amorce

```

<400> 40
ggtttaggat taaaagatgc 20

```

<210> 41  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: amorce

```

<400> 41
gaagaagttg gagctactg 19

```

<210> 42  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 42  
aataagagca gggaaagaaa c 21

<210> 43  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 43  
aaagaaaaga atgaatgaac tt 22

<210> 44  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 44  
tatgcttatg gtatttagct a 21

<210> 45  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 45  
aaacttaata gaaattcaaa ctaaa 25

<210> 46  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 46  
gttcaaacga taaatagaga a 21

<210> 47  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 47

gaaacagatg ctaaagatgt

20

<210> 48

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 48

ccatatactg cgagtgggaa

20

<210> 49

<211> 26

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 49

tagaaattca atcaattaag tatatg

26

<210> 50

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 50

ttggtaatgc tttaccagat

20

<210> 51

<211> 25

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 51

tgcattacac cagcagatat cattg

25

<210> 52

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 52

gatgatattg accatttagg

20

<210> 53  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 53  
tgaaagaatg tcaattcaag a 21

<210> 54  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 54  
aaacccatta gctgagtt 18

<210> 55  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 55  
tggtcgtttc atggatgatg aagttg 26

<210> 56  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 56  
aagatagcta tggtgtagca 20

<210> 57  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 57  
cttagagaac gatgactcta a 21



<210> 58  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 58  
tagttggttt catgacttgg ga

22

<210> 59  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 59  
ttgaaagtcc aacaaagcaa

20

<210> 60  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 60  
ggtaaagtaa cgcctaaagg t

21

<210> 61  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 61  
tggaggtatg ggcacttgaa

20

<210> 62  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 62  
acatctttag catctgtttc

20

<210> 63  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 63  
atcgtttgaa cgccactctt

20

<210> 64  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 64  
tcatagtaag ttgcgccat

20

<210> 65  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 65  
atctggtaaa gcattaccaa

20

<210> 66  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 66  
caatgatatc tgctggtgta atgca

25

<210> 67  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 67  
cctaaatggt caatatcatc

20

<210> 68

<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 68  
cgaatattaa ttaattgttg 20

<210> 69  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 69  
gtgatagcat gtgtatctaa atca 24

<210> 70  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 70  
taactatctt cttcatcagc 20

<210> 71  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 71  
tgctacaaca tagctatctt 20

<210> 72  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 72  
caacttcatac atccatgaaa cgacca 26

<210> 73  
<211> 21

<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 73  
atgcaacgtc aggccgttcc g 21

<210> 74  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 74  
agacgacgaa cagaatttca 20

<210> 75  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 75  
gctcgaatga taacgtgatt 20

<210> 76  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 76  
acttgtccaa tgttcatagc 20

<210> 77  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 77  
catatgcttc aagtgcccat a 21

<210> 78  
<211> 20  
<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 78

ccaagtgggtt gttgtgtaac

20

<210> 79

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 79

tttagagctt tcactgtttg

20

<210> 80

<211> 21

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 80

caccatatga ccaagaacga a

21

<210> 81

<211> 22

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 81

caatcaagga gcctacctcc tt

22

<210> 82

<211> 21

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 82

gaaattattt acatcaatca a

21

<210> 83

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 83

taactatctt cttcatcagc

20

<210> 84

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 84

cccagtcttt tgtaggtccg

20

<210> 85

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 85

cccattcttt cagcagctac

20

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR 02/03012

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C12Q1/68 C07K14/31 C12N15/31

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C12Q C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS, GENSEQ, EMBL

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01 34809 A (GLAXO GROUP LTD ;KIMMERLY WILLIAM JOHN (US)) 17 May 2001 (2001-05-17) page 143, line 35 -page 144, line 20	3,6,7, 11,14
Y	page 26, line 1-5	1-14
X	WO 98 23738 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ;WARREN RICHARD LLOYD JR (US)) 4 June 1998 (1998-06-04) page 35-36	1,3,6,7, 11,14
Y	page 21, last paragraph -page 23, paragraph 2	1-14
Y	WO 99 05316 A (KOOK YOON HOH ;BIONEER CORP (KR); KIM BUM JOON (KR)) 4 February 1999 (1999-02-04) page 6, line 30 -page 7, line 20; examples 1-5	1-14
	--- -/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 January 2003

Date of mailing of the international search report

03/02/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

ALCONADA RODRIG., A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat. Application No.

PCT/FK 02/03012

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MOLLET C ET AL: "RPOB SEQUENCE ANALYSIS AS A NOVEL BASIS FOR BACTERIAL IDENTIFICATION" MOLECULAR MICROBIOLOGY, BLACKWELL SCIENTIFIC, OXFORD, GB, vol. 26, no. 5, 1997, pages 1005-1011, XP000913977 ISSN: 0950-382X page 1009, right-hand column, paragraph 2 * voire le dernier phrase de l'abrégé *	1-14
A	ROWLAND G C ET AL: "Comparative sequence analysis and predicted phylogeny of the DNA-dependent RNA polymerase beta subunits of Staphylococcus aureus and other eubacteria." BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, vol. 21, no. 1, February 1993 (1993-02), page 40S XP008003308 the whole document	1-14
T	DRANCOURT MICHEL ET AL: "rpoB Gene Sequence-Based Identification of Staphylococcus Species." JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, vol. 40, no. 4, April 2002 (2002-04), pages 1333-1338, XP008003295 the whole document	1-14



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/TR 02/03012

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0134809	A	17-05-2001	AU 1478301 A WO 0134809 A2	06-06-2001 17-05-2001
WO 9823738	A	04-06-1998	EP 0966529 A1 JP 2001510990 T WO 9823738 A2	29-12-1999 07-08-2001 04-06-1998
WO 9905316	A	04-02-1999	KR 234975 B1 AU 8464898 A WO 9905316 A1 US 6242584 B1	15-12-1999 16-02-1999 04-02-1999 05-06-2001

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande — nationale No

PCT/rn 02/03012

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 C12Q1/68 C07K14/31 C12N15/31

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C12N C12Q C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS, GENSEQ, EMBL

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 01 34809 A (GLAXO GROUP LTD ;KIMMERLY WILLIAM JOHN (US)) 17 mai 2001 (2001-05-17) page 143, ligne 35 -page 144, ligne 20 page 26, ligne 1-5	3,6,7, 11,14
Y	---	1-14
X	WO 98 23738 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ;WARREN RICHARD LLOYD JR (US)) 4 juin 1998 (1998-06-04) page 35-36	1,3,6,7, 11,14
Y	page 21, dernier alinéa -page 23, alinéa 2	1-14
Y	WO 99 05316 A (KOOK YOON HOH ;BIONEER CORP (KR); KIM BUM JOON (KR)) 4 février 1999 (1999-02-04) page 6, ligne 30 -page 7, ligne 20; exemples 1-5	1-14
	---	
	-/-	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

## \* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

23 janvier 2003

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

03/02/2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

ALCONADA RODRIG..., A

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR 02/03012

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>MOLLET C ET AL: "RPOB SEQUENCE ANALYSIS AS A NOVEL BASIS FOR BACTERIAL IDENTIFICATION" MOLECULAR MICROBIOLOGY, BLACKWELL SCIENTIFIC, OXFORD, GB, vol. 26, no. 5, 1997, pages 1005-1011, XP000913977 ISSN: 0950-382X page 1009, colonne de droite, alinéa 2 * voire le dernier phrase de l'abrégé *</p>	1-14
A	<p>ROWLAND G C ET AL: "Comparative sequence analysis and predicted phylogeny of the DNA-dependent RNA polymerase beta subunits of Staphylococcus aureus and other eubacteria." BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS, vol. 21, no. 1, février 1993 (1993-02), page 40S XP008003308 le document en entier</p>	1-14
T	<p>DRANCOURT MICHEL ET AL: "rpoB Gene Sequence-Based Identification of Staphylococcus Species." JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, vol. 40, no. 4, avril 2002 (2002-04), pages 1333-1338, XP008003295 le document en entier</p>	1-14

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/TK 02/03012

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0134809	A	17-05-2001	AU 1478301 A WO 0134809 A2	06-06-2001 17-05-2001
WO 9823738	A	04-06-1998	EP 0966529 A1 JP 2001510990 T WO 9823738 A2	29-12-1999 07-08-2001 04-06-1998
WO 9905316	A	04-02-1999	KR 234975 B1 AU 8464898 A WO 9905316 A1 US 6242584 B1	15-12-1999 16-02-1999 04-02-1999 05-06-2001

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☒ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**